



Zdravotně  
sociální fakulta  
Faculty of Health  
and Social Sciences

Jihočeská univerzita  
v Českých Budějovicích  
University of South Bohemia  
in České Budějovice

**Obsah vybraných biologicky aktivních látek ve volně  
rostoucích rostlinách tradičně využívaných jako zelenina**

## **BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

Studijní program:

**SPECIALIZACE VE ZDRAVOTNICTVÍ**

**Autor:** Simona Šusterová

**Vedoucí práce:** doc. Ing. Eva Dadáková, Ph.D.

České Budějovice 2020

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci s názvem „*Obsah vybraných biologicky aktivních látek ve volně rostoucích rostlinách tradičně využívaných jako zelenina*“ jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejich internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby bakalářské práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé bakalářské s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 2. 6. 2020

.....

Simona Šusterová

## **Poděkování**

Chtěla bych poděkovat vedoucí mé bakalářské práce doc. Ing. Evě Dadákové, Ph.D. za ochotu, vstřícný a laskavý přístup, za poskytnuté konzultace, cenné rady a trpělivost, kterou vložila do mé práce. Můj velký vděk patří i Ing. Tamaře Pelikánové za skvělou pomoc při praktické části mé práce v laboratoři. Nesmím zapomenout na podporu celé mé rodiny, která mě velmi motivovala ke studiu.

# **Obsah vybraných biologicky aktivních látek ve volně rostoucích rostlinách tradičně využívaných jako zelenina**

## **Abstrakt**

Vyvážená strava by měla obsahovat vedle základních živin také dostatek minoritních biologicky aktivních látek, například esenciálních vitamínů a minerálních látek. Do této skupiny látek patří například rostlinné polyfenoly, které vystupují jako účinné antioxidanty. Strava bohatá na přírodní antioxidačně působící látky přispívá k prevenci závažných civilizačních onemocnění, zejména onemocnění srdce a cév.

Lidé se odjakživa pokoušeli obohatit svůj jídelníček o zdroje potřebných biologicky aktivních látek. Zejména v jarním období, kdy skladované potraviny ztrácely svoji výživovou hodnotu, přicházely na řadu volně rostoucí rostliny. Tyto byly tradičně používány jako zdroj vitamínů a dalších potřebných látek. V našich krajích k nim patří tradičně mladá nať kopřivy dvoudomé, ale využívali se také někteří zástupci čeledě brukvovitých.

Cílem bakalářské práce bude vybrat soubor vhodných volně rostoucích jedlých rostlin, pořídit z nich vzorky pro účely analýzy a zjistit obsah vybraných biologicky aktivních látek.

Pro analýzu vybraných biologicky aktivních polyfenolických látek obsažených v rostlinném materiálu bude použita technika kapalinové chromatografie. Je to moderní separační analytická technika, s jejíž pomocí se s vysokou spolehlivostí stanoví vybrané biologicky aktivní sloučeniny.

## **Klíčová slova**

Listová zelenina; Biologicky aktivní látky; Flavonoidy

# **The content of selected biologically active substances in wild plants traditionally used as vegetables**

## **Abstract**

A balanced diet should contain, in addition to essential nutrients, enough minority biologically active substances, such as essential vitamins and minerals. This group of substances include, for example, plant polyphenols, which act as effective antioxidants. A diet rich in natural antioxidant substances contributes to the prevention of serious civilization diseases, especially heart and blood vessels. People have always tried to enrich their diet with the resources of the biologically active substances. Particularly in spring, when stored foods lost their nutritional value, several wild plants came in. These have traditionally been used as a source of vitamins and other necessary substances. In our regions, they are traditionally a young nettle, but also some members of the family of crucifers.

The aim of the bachelor thesis will be to select a set of suitable wild growing plants, to take samples for analysis and to determine the content of selected biologically active substances. A liquid chromatographic technique will be used to analyze the selected biologically active polyphenols contained in the plant material. It is a modern separation analytical technique, with which selected biologically active compounds are determined with high reliability.

## **Key Words**

Leafy vegetable; Biological active substances; Flavonoids

## Obsah

1	Úvod.....	8
2	Teoretická část.....	9
2.1	Úloha zeleniny ve výživě člověka.....	9
2.2	Skladování.....	10
2.2.1	Dnešní doba .....	11
2.2.2	Kuchyňské metody ovlivňující dostupnost živin v zelenině .....	11
2.3	Vitamín C (L – askorbová kyselina) .....	12
2.3.1	Příjem vitamínu C .....	13
2.3.2	Využití .....	14
2.4	Šťavelová kyselina .....	14
2.4.1	Příjem šťavelové kyseliny.....	15
2.4.2	Využití .....	16
2.5	Rostlinné polyfenoly .....	16
2.5.1	Výskyt a význam polyfenolů .....	17
2.6	Flavonoidy.....	18
2.6.1	Flavonoly .....	18
2.6.2	Flavanony.....	21
2.6.3	Flavony a flavanoly .....	21
2.6.4	Isoflavony .....	21
2.6.5	Anthokyany.....	21
2.6.6	Flavonoidy v rostlinách .....	22
2.6.7	Příjem ve stravě .....	22
2.6.8	Faktory ovlivňující obsah flavonoidů v zelenině.....	24
3	Botanická část.....	25
3.1	Kopřiva dvoudomá ( <i>Urtica dioica</i> L.).....	25
3.1.1	Popis.....	25
3.1.2	Sběr .....	26
3.1.3	Užití v kuchyni.....	26
3.1.4	Zdravotní účinky .....	27
3.2	Bršlice kozí noha ( <i>Aegopodium podgraria</i> L.) .....	28
3.2.1	Popis.....	28
3.2.2	Užití v kuchyni.....	28
3.2.3	Zdravotní účinky .....	29
3.3	Šťovík kyselý ( <i>Rumex acetosa</i> L.).....	30
3.3.1	Popis.....	30
3.3.2	Užití v kuchyni.....	31
3.3.3	Účinky na zdraví .....	32
3.4	Česnáček lékařský ( <i>Alliaria petiolata</i> M. Bieb.) .....	33
3.4.1	Popis.....	33
3.4.2	Užití v kuchyni.....	33
3.4.3	Zdravotní účinky .....	34
4	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC) .....	36
4.1	Úvod.....	36
4.2	Stavba systému.....	36
4.3	Mechanismus HPLC .....	37
4.4	Kolony.....	38
4.5	Stacionární fáze .....	38
4.6	Mobilní fáze .....	39

4.7	Separace .....	39
4.8	Modernizace HPLC.....	40
5	Praktická část .....	41
5.1	Pomůcky.....	41
5.1.1	Seznam chemikálií a standardů.....	41
5.1.2	Seznam přístrojů a pomůcek.....	41
5.2	Materiál .....	42
5.3	Použité metody.....	43
5.3.1	Stanovení celkového kvercetinu a dalších aglykonů v lyofilizovaném materiálu .....	43
5.3.2	Stanovení kyseliny L-askorbové v čerstvém materiálu .....	46
5.3.3	Identifikace organických kyselin v čerstvém materiálu .....	47
5.3.4	Měření.....	48
6	Cíle práce .....	49
7	Výsledky .....	50
7.1	Kopřiva dvoudomá.....	51
7.2	Česnáček lékařský .....	52
7.3	Bršlice kozí noha.....	53
7.4	Šťovík kyselý .....	54
7.5	Výsledky askorbové kyseliny (AA).....	55
7.6	Identifikace organických kyselin .....	57
8	Diskuze .....	58
9	Závěr .....	60
10	Seznam literatury .....	61
11	Seznam tabulek a obrázků .....	66
12	Seznam zkratk .....	67

## 1 Úvod

Málokdo si představí pod pojmem tradiční listová zelenina kopřivu dvoudomou nebo česnáček lékařský. Někteří tyto rostliny považují za plevel, nikoli za součást svého jídelníčku, jako je brali naši předkové. Do svého stravování jako listovou zeleninu řadí spíše tu dostupnou v obchodech jako třeba špenát. Principem této bakalářské práce je seznámit čtenáře se souborem vybraných rostlin s obsahem zdraví prospěšných látek.

Dalším principem této bakalářské práce bylo stanovit obsah fenolických látek a flavonoidních aglykonů ve čtyřech vybraných volně rostoucích rostlinách, kterými jsou kopřiva dvoudomá, česnáček lékařský, šťovík kyselý a bršlice kozí noha. Neméně podstatným cílem také bylo stanovit obsah vitamínu C a identifikovat organické kyseliny. Všechny tyto analyty byly stanoveny pomocí analytické metody HPLC, se kterou jsem se během výzkumu seznámila. HPLC je efektivní metoda, jelikož poskytuje rychlé separace s vyšší nosností vzorku. Dále je tato metoda velmi citlivá a spolehlivá, proto je velmi často používána pro stanovení daných látek ve vzorku. Používá se pro kvalitativní i kvantitativní analýzu netěkavých sloučenin (Bonta, 2017).



## 2 Teoretická část

### 2.1 Úloha zeleniny ve výživě člověka

Již naši předkové nejen na našem území sbírali jedlé rostliny, které jim daný kraj přinesl. Sbírali ty rostliny, jež na jejich území rostly ve větším množství a daly se uchovávat. Dokonce u míst, kde tyto rostliny rostly, pravěcí lidé zakládali tábory. Sbírali všechno jedlé, co v jejich okolí rostlo, tj. semínka, ovoce, kořínky anebo listovou zeleninu (Beranová, 2015).

Rostliny hrály důležitou roli ve zdraví člověka a zlepšování kvality života už před mnoha lety. Sloužily lidem k obohacení jídelníčku, nápojů, k výrobě kosmetických produktů, léků, koření nebo barviv. V potravě pomohou nahradit nadměrné solení svojí aromatickou chutí, vůní a některé byliny dodají pokrmu i charakteristickou barvu. Byliny užívané pro dochucení pokrmů obsahují různé druhy aktivních fytochemikálií, které mají pozitivní vliv na naše zdraví například tím, že zabraňují vzniku chronických onemocnění. Již naši předci přišli na to, že některé rostliny mohou být pro člověka ve vyšších dávkách toxické (Craig, 2013).

Zelenina je bohatým zdrojem vitamínů, minerálů, enzymů, ale i vody. Té obsahuje až 90 %. Samozřejmě závisí na druhu zeleniny. V této vodě je rozpuštěna řada živin ve fyziologicky přijatelné koncentraci vyvolávající osmotický tlak, který je blízký tlaku tělních tekutin (Kopecký, 2010). Díky tomu se také vyznačuje nízkou kalorickou hodnotou. Dodá tělu sacharidy i bílkoviny nebo minerální prvky. Listová zelenina nám dodá i hořčík, který je složkou chlorofylu. Podpoří naše vyprazdňování díky vyššímu obsahu vlákniny, to je jeden z důvodů, proč bychom ji měli pravidelně konzumovat a zařadit jako nedílnou složku našich jídelníčků (Ntulí, 2019).

Nejvhodnější je konzumovat zeleninu syrovou, jelikož takto obsahuje nejvíce prospěšných živin (Brookie a kol., 2018). Některým zpracováním potravin dochází k degradaci prospěšných látek, jako jsou antioxidanty a ochuzujeme tak náš organismus. Například při vaření listové zeleniny narušujeme rostlinnou tkáň a dochází k narušení fyzikálně-chemických vlastností buněčné stěny, což má vliv na dostupnost některých prospěšných látek (Ramos a kol., 2017).

Listová zelenina je pěstována a konzumována kvůli nutriční hodnotě a kvalitě těchto potravin. Mezi významné nutriční faktory nacházející se v listové zelenině řadíme

kyselinu askorbovou, flavonoidy, listovou kyselinu nebo polyfenoly. Tyto složky potravy vykazují různé biologické účinky, mezi které řadíme antioxidační, antimikrobiální, protirakovinné nebo antidiabetické. Antioxidanty plní nezastupitelnou roli v ochraně organismu a působí preventivně na choroby spojené s reaktivními druhy kyslíku (ROS). Nadbytek ROS způsobí oxidační stres, který vykazuje neblahý vliv na DNA, lipidy, proteiny a další buňky organismu a přispívá tak ke vzniku kardiovaskulárních onemocnění, stárnutí, zánětů, rakovin či diabetu mellitu (Hossain a kol., 2015).

Listová zelenina se vyznačuje vyšším obsahem zelených barviv než ostatní druhy zeleniny. Dodává tedy našemu tělu více chlorofylu. Také je bohatá na antioxidanty nebo askorbovou kyselinu. U listové zeleniny jsou ke konzumaci určeny přímo listy. Pokud chceme z listové zeleniny vytěžit nejvíce, sebereme ji za největšího denního světla, tedy kolem poledního. V tu dobu listy obsahují nejvíce prospěšných živin (Hossain a kol., 2015).

## **2.2 Skladování**

Výhodou některých druhů zeleniny je jejich skladnost. Vydrží uschovaná na dobu mimo sezonu. S listovou zeleninou to však provozovat nelze, jelikož listy po pár dnech uvadnou. Postupně dochází k metabolickému rozkladu. Čím je rychlejší, tím rychleji se zelenina kazí, tudíž u listové zeleniny probíhá rozkladný metabolismus rychleji než u jiných druhů. Můžeme tento proces o něco prodloužit vhodným skladováním, tedy za vhodně snížené teploty, v temnu a při vhodné vlhkosti vzduchu. Mnou zkoumaná listová zelenina je určena spíše k přímé konzumaci, rychle se kazí. V lednici při teplotě cca 8 °C vydrží přibližně 3 dny. Během skladování zelenina vadne, ztrácí svou kvalitu, dochází k degradaci chlorofylu, což způsobuje žloutnutí. Rozsah inhibice není ovlivněn pouze koncentrací šťavelové kyseliny, ale také hodnotou pH (Altunkaya a Gökmen, 2008).

Zmražením zeleniny nezpůsobíme velkou újmu prospěšných látek. Záleží na následném zpracování. Pokud zeleninu použijeme zmrazenou například do koktejlu, měla by si zachovat živiny. Pokud zmrazenou zeleninu opět necháme roztát a následně ji zpracujeme například vařením, ztrácí zelenina prospěšné látky (Brookie a kol., 2018).

### **2.2.1 Dnešní doba**

Lidé od pradávna zkoumali a využívali výživných i léčivých účinků bylin, které jim příroda nabízí. Měly by být bezpečnější, levnější, lépe dostupné a pro lidský organismus šetrnější než vyráběné léky. Několik rostlin se již po léta tradičně využívá k léčení různých neduhů. Vědci zkoumali přítomnost biologicky aktivních sloučenin nacházejících se v jednotlivých druzích rostlin, aby přispěli k poznání léčivých účinků těchto bylin. Stále existuje celá řada rostlin, o jejichž účincích se tolik neví (Rajput, 2018).

### **2.2.2 Kuchyňské metody ovlivňující dostupnost živin v zelenině**

Zelenina v čerstvém stavu nám dodá nejvíce prospěšných živin, které obsahuje. Pokud ji chceme tepelně upravit, musíme počítat se snížením nutričních hodnot. V této kapitole porovnáme nejčastější způsoby tepelné úpravy potravin a jejich dopad na pokrm.

Organické kyseliny jsou vhodným ukazatelem účinků tepelných úprav na rostlinu. Je to dáno tím, že se obsah organických kyselin při ohřevu postupně mění.

Vařením zeleniny v ní snížíme obsah flavonoidních látek i organických kyselin, jelikož vaření ovlivňuje fyzikálně-chemické vlastnosti, biologickou dostupnost živin a také ubírá na přirozené chuti nebo vůni dané zeleniny. Tento pokles je pravděpodobně způsoben chemickou nebo tepelnou degradací. Smažením se nepatrně sníží obsah flavonoidů, kdežto mikrovlnná trouba sníží jejich podíl o něco více.

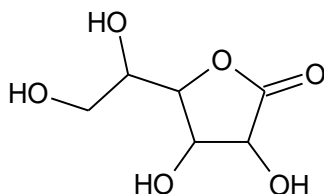
Nejvhodnější úpravou zeleniny je vaření v páře. To způsobí nejmenší ztrátu bioaktivních složek zeleniny, jako jsou organické kyseliny, minerály, flavonoidy a další fenolické látky (Goméz-Limia a kol., 2018).

Nově vyvinutá metoda pro vaření zeleniny s minimální ztrátou živin se nazývá „sous-vide“. Při ní jsou potraviny vakuově baleny v plastových sáčkích. Takto zabalenou potravinu je možné několik dní uchovávat v lednici. Nevýhodou této metody je zhoršení chuti zeleniny. Výhodná je pro lidi, kteří nemají tolik času na přípravu jídla (Goméz-Limia a kol., 2018).

### 2.3 Vitamín C (*L* – askorbová kyselina)

Název vitamín C zastupuje všechny látky, které vykazují aktivitu askorbové kyseliny. Pod název vitamínu C spadá více složek, například reversibilní redoxní systém, ale tady ho bude zastupovat právě *L*-askorbová kyselina. Ta jako jediná ze 4 možných stereoisomerů vykazuje u vitamínu C aktivitu (Williams a kol., 2016).

**Obrázek 1 Vitamín C**



Zdroj: vlastní

Konečným produktem metabolismu askorbové kyseliny je oxalát. Proto konzumace potravy s vysokým podílem AA může zvýšit koncentraci oxalátu v moči, a tím přispívat k tvorbě kamenů u vnímavých jedinců (Williams a kol., 2016).

Jedná se o dobře rozpustnou látku ve vodě. Stabilní je v kyselém prostředí. Askorbovou kyselinu syntetizují všechny zelené rostliny, které zajišťují svoji potřebu energie pomocí fotosyntézy (fotoautotrofní rostliny). Rostliny syntetizují askorbovou kyselinu z aktivní formy *D*-mannosy, kterou je GDP-*D*-mannosa. Do této kategorie rostlin tedy spadají i rostliny popisované v této bakalářské práci.

Molekula askorbové kyseliny při svém odbourávání produkuje některé známé metabolity. Těmi jsou šťavelová kyselina, *L*-vinná kyselina, *L*-threonová kyselina nebo *L*-glycerová kyselina. Dojde k tomu tak, že enzym askorbát 2,3-dioxygenasa štěpí molekulu askorbové kyseliny mezi uhlíky C-2 a C-3, což vyžaduje tripletový kyslík, vodu a ionty  $\text{Fe}^{2+}$ . Při štěpení vzniká šťavelová a *L*-threonová kyselina. Další oxidací *L*-threonové kyseliny vzniká *L*-vinná kyselina (Velíšek a Hajšlová, 2009).

Vitamín C působí jako redukční činidlo. Poskytne elektron substrátu, přičemž se sám oxiduje na askorbylový radikál, který je relativně stabilní volný radikál. Ten může dát dále vznik askorbátu nebo dehydroaskorbové kyselině (Lykkesfeldt a kol., 2014).

Vitamín C je klíčový prvek pro metabolismus všech živých organismů. Působí jako kofaktor mnoha enzymů. Podílí se na metabolismu rostlin i živočichů. U člověka se podílí

na některých fyziologických procesech, jako je vstřebávání železa, syntéza kolagenu nebo podpora imunitního systému (Paciolla a kol., 2019).

Světlo a další faktory prostředí jsou důležitými regulátory vitamínu C v rostlinách. Vitamín C zpomaluje stárnutí listů rostlin, jelikož má vliv na samotnou fotosyntézu a omezuje poškození způsobené ROS. Má vhodné předpoklady ke zlepšení tolerance rostlin vůči stresu (Paciolla a kol., 2019).

### **2.3.1 Příjem vitamínu C**

Pro většinu lidí je vitamín C nejznámější a nejvíce vyhledávaný vitamín. Všichni víme, jak je důležitý pro podporu imunitního systému. Měli bychom dbát na jeho přísun v potravě celoročně, jelikož má úlohu v řadě biochemických pochodů. Nejlepšími zdroji vitamínu C jsou rostlinné potraviny, například citróny a další citrusové plody, rakytník, kiwi a zdroje pěstovatelné v naší zemi např. šípek, brokolice, černý rybíz nebo brusinky. Nejvhodnější je tedy čerstvé ovoce a zelenina. Tyto zdroje představují u běžné populace až 90 % zdrojů přijatého vitamínu C (Lykkesfeldt a kol., 2014).

Lidé žijící v arktických oblastech, kde je vegetace velmi řídká, si tradičně doplňují kyselinu askorbovou alternativní cestou. Sbírají byliny, jehličí nebo kůry stromů nacházející se v jejich podmínkách. Jako alternativní živočišný zdroj vitamínu C využívají velrybí kůži nebo zvířecí játra (Lykkesfeldt a kol., 2014).

Z potravin živočišného původu stojí za zmínku pouze játra, v ostatních živočišných produktech se nachází v zanedbatelném množství. Obvyklé dávkování by se mělo pohybovat v rozmezí 60-200 mg denně pro zdravého dospělého člověka po malých dávkách, jelikož organismus dávky větší jak 50 mg přijaté naráz vylučuje močí, a tudíž je nevyužije. Nemocní lidé po prodělání závažnějších zdravotních problémů by svůj příjem vitamínu C měli zvýšit klidně až na 400-1000 mg denně. Pozor bychom měli dát na různé úpravy potravin obsahující vitamín C, které mohou jeho množství ve zdroji snížit (Lykkesfeldt a kol., 2014).

Pokud přijmeme takové množství kyseliny askorbové, které není střevní sliznice schopna přijmout, tělo se začne bránit v podobě gastrointestinálních problémů a průjmů (Tuhársky, 2014).

Nízký příjem vitamínu C zamezí optimálnímu fungování organismu (Paciolla a kol., 2019).

Vitamín C je náchylný na degradaci teplem a také na ztráty vylouhováním do varné vody, jelikož se jedná o vitamín rozpustný ve vodě. To znamená, že vařením listové zeleniny snížíme množství vitamínu C nacházejícího se v této zelenině. Ochudíme se tak o dávku pozitivních dopadů tohoto vitamínu. Vitamíny rozpustné v tucích (A, D, E, K) jsou na tuto degradaci méně citlivé (Brookie a kol., 2018).

### **2.3.2 Využití**

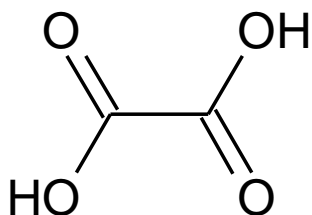
V potravinářství slouží askorbová kyselina jako aditivum. Přidává se do mraženého ovoce nebo džusů, kde má zabránit nežádoucímu aroma, které vzniká oxidací při skladování. Ze stejného důvodu se přidává také do piva, kde i mimo jiné zabraňuje zákalu. Dále se přidává do mouky pro zlepšení jejích pekařských vlastností. Další potravinovou kategorií je maso a uzeniny. U těch askorbová kyselina urychluje výrobu a stabilizuje barvu finálního produktu. Také se najdou potraviny, ve kterých askorbovou kyselinu nenalezneme a těmi jsou tuky, oleje a houby (Lykkesfeldt a kol., 2014).

Při skladování potravin lehce podléhá oxidaci. Aby k takové oxidaci došlo, postačí vzdušný kyslík, působení enzymů oxidoreduktas či peroxidu vodíku (Velíšek a Hajšlová, 2009).

### **2.4 Šťavelová kyselina**

Tuto běžnou dikarboxylovou kyselinu známe pod vzorcem  $\text{COOH} - \text{HOOC}$ . Také ji můžeme nazvat oxalová, 1,2 – ethandiová nebo jen zkratkou OA (oxalic acid). Najdeme ji v mnoha rostlinách a bylinách. Nachází se v podstatě v celé rostlině – v listech, stoncích, kořenech a plodech. Konzumace vysoké dávky oxalátu způsobí pálení v ústech až otok hrdla s následným udušením. Šťavelová kyselina a šťavelany jsou významné pro udržení vhodné hladiny vápníku v rostlině a slouží jako ochránci rostlin proti škůdcům (Prasad a Shivay, 2017).

**Obrázek 2 Šťavelová kyselina**



Zdroj: vlastní

Smrtná dávka pro lidský organismus představuje 4-5 g šťavelové kyseliny (Arndt, 2010).

Z chemického hlediska ji můžeme popsat jako krystalickou, ve vodě rozpustnou bezbarvou kyselinu, která vykazuje leptavé účinky. S vápenatými ionty tvoří nerozpustnou sůl (kalcium-oxalát, šťavelan vápenatý), což může za současného nízkého příjmu vápníku a vitamínu D vzájemně interagovat s metabolismem vápníku v negativním smyslu (Velíšek a Hajšlová, 2009).

Šťavelová kyselina a šťavelany nemají jen negativní vlastnosti. Mezi pozitivní vlastnost můžeme zařadit ochranu rostliny proti různému hmyzu a škůdcům, jelikož jsou pro ně rostliny s vyšším obsahem těchto látek toxické a smrtící. Její kyselost je větší [ $pK_a = 1,27$ ] než kyseliny octové [ $pK_a = 4,76$ ], tudíž je pravděpodobně nejsilnější organickou kyselinou v rostlinách (Prasad a Shivay, 2017).

Šťavelová kyselina může způsobit horší vstřebávání vápníku, hořčíku, zinku nebo železa (Goméz-Limia a kol., 2010).

Obsah a škodlivost OA v rostlině je závislý na více faktorech ostatně jako každá jiná látka v rostlině. Závisí na odrůdě, klimatu, kterému je rostlina vystavena, na pH, světelných podmínkách nebo případném hnojení. Obsah šťavelové kyseliny v rostlině můžeme mírně snížit právě hnojením (Goméz-Limia a kol., 2010).

#### **2.4.1 Příjem šťavelové kyseliny**

Šťavelová kyselina je považována za antinutriční látku, kvůli jejímu působení s vápníkem. V našich domácnostech se setkáme s OA ve špenátu, červené řepě, bramborách nebo mrkvi. Její množství v těchto potravinách závisí na odrůdě, ročním období, stáří nebo půdních podmínkách dané rostliny. Vstřebání OA z potravy závisí na dávce (Storcksdiesk a kol., 2008).

Poznáme ji podle své typicky kyselé chuti. Měli bychom se hlídat při konzumaci šťovíku kyselého, který si při procházce kolem luk či polí lidé dopřejí.

Dalším způsobem snížení koncentrace šťavelové kyseliny v rostlinách je spaření v horké vodě (Bello a kol., 2019).

Ze zdravotního hlediska může při jejím nadbytku v lidském organismu dráždit zažívací trakt a tvořit ledvinové kameny. Právě osoby postižené tímto onemocněním by se měly vyvarovat zelenině obsahující šťavelovou kyselinu, jelikož by podpořila další tvorbu ledvinových kamenů a zhoršení stavu (Zheng a kol., 2009).

#### **2.4.2 Využití**

Díky svým chelatačním vlastnostem vůči kovovým iontům je šťavelová kyselina široce používána pro bělení, zejména pro odstraňování rzi. Používá se také pro restaurování starého dřeva (Prasad a Shivay, 2017).

Šťavelová kyselina je používána ke zmírnění posklizňového hnědnutí ovoce, jako jsou švestky, banány nebo broskve, které hnědnutí podléhají poměrně rychle. Napomáhá tedy prodloužení životnosti tohoto ovoce (Fuwang a kol., 2011).

O slibném účinku zachování kvality ovoce a oddálení poškození ovoce po jeho sklizni informuje i další studie zabývající se oddálením posklizňové degradace artyčoků. Udává, že OA zpomalila úbytek hmotnosti, měknutí i barevnou změnu artyčoků (Ruíz-Jiménes a kol., 2014).

#### **2.5 Rostlinné polyfenoly**

Rostlinné polyfenoly jsou všudypřítomné antioxidační složky rostlin (Proestos a Varzakas, 2017). Tyto aromatické sekundární metabolity obsahují jeden či více hydroxylů, které se přímo vážou na fenylovou část molekuly. Díky tomu disponují kyselými vlastnostmi, které pomáhají k jejich detekci a izolaci (Harmatha, 2005).

Jejich redoxní vlastnosti jim umožňují působit jako redukční činidla a donory (dárci) vodíku (Proestos a Varzakas, 2017). Chrání rostlinu před patogeny a škůdci. Působí proti malárii, oxidačnímu stresu, rakovině, ateroskleróze či diabetu (Mishra a kol., 2018).

Rostlinné fenoly slouží v rostlině jako strukturní a stavební složky buněčné stěny, ale i jednotlivých rostlinných orgánů. Dále slouží jako obranné látky proti mechanickému



poškození, chladu nebo jiným stresem vyvíjeným na rostlinu. Můžeme je také popsat jako signální komponenty, jelikož odhání škůdce, a naopak přitahují opylovače. Vynikají svou barvou květů a plodů, chutí nebo také vůní. Všechny vyjmenované vlastnosti napomáhají rostlině přežít (Harmatha, 2005).

Fenoly v rostlinách mohou mít pozitivní i negativní účinky. Některé fenoly v rostlině působí toxicky, a jiné naopak léčebně pro člověka. Tyto ve vodě málo rozpustné látky se mohou v rostlině vyskytovat ve formě aglykonů nebo glykosidů. Fenoly jsou vhodné pro výrobu v dřevařském či farmaceutickém průmyslu nebo také při výrobě plastů.

Významnými zástupci rostlinných fenolů jsou:

- Třísloviny
- Fenolické kyseliny s jejich deriváty (lignany, sinapiny)
- Lignin
- Anthokyany
- Flavonoidy
- Isoflvonoidní fytoestrogeny

Tyto látky se skládají z jednoho či více aromatických nebo heterocyklických jader spojených alifatickým řetězcem, popřípadě kondenzovaně. Pokud jsou složeny ze dvou a více hydroxylových skupin, nazýváme je polyfenoly (Harmatha, 2005; Ignat, 2011).

### **2.5.1 Výskyt a význam polyfenolů**

Polyfenoly jsou hojně se vyskytující mikronutrienty, které mají blahodárné zdravotní účinky. Prokázány jsou příznivé zdravotní účinky na kardiovaskulární systém nebo v boji proti rakovině. Také mají preventivní účinky na degenerativní onemocnění, závisí však na spotřebovaném množství a jejich dostupnosti. V rostlině polyfenoly poskytují ochranu před radiací, UV zářením a patogeny (Manach a kol, 2004).

Polyfenoly se shodují fenolovým kruhem, ale vyskytují se v mnoha různých strukturách.

Příjem polyfenolů ve stravě se ve světě liší podle místní dostupnosti zdrojů potravin obsahujících polyfenoly. Podle G. Chiva-Blanch a L. Badimon (2017) mají největší příjem polyfenolů za den obyvatelé Japonska, a to až 1500 mg/den na dospělého člověka.

Mezi významné potravinové zdroje polyfenolů řadíme víno, kávu, pivo, kakao, čaje, sezamový olej, ořechy a samozřejmě ovoce a zeleninu. Jelikož polyfenoly se nachází

v rostlinných potravinách, vegani a vegetariáni by tím pádem měli mít vyšší příjem polyfenolů ze stravy (Chiva-Blanch a Badimon, 2017).

## **2.6 Flavonoidy**

Flavonoidy jsou nejdůležitější skupinou látek z rostlinných polyfenolů. Flavonoidy jsou velkou skupinou sekundárních metabolitů s více než 10 000 struktur. Ve své struktuře obsahují dva benzenové kruhy spojené tříuhlíkovým řetězcem. V potravě jsou vázány na různé cukry ve formě glykosidů. V rostlinách se vyskytují nejvíce jako  $\beta$ -glykosidy (Slanina, 2004).

Mají antivirové a antibakteriální účinky. Také disponují silnými antioxidačními účinky, tudíž reagují s volnými radikály a mají tak dopad na imunitní mechanismy, které jsou důležité v zánětlivých procesech. Jsou pokládány za antikarcinogenní složky, podporují vstřebávání vitamínu C. Stále více se tato třída přírodních produktů stává předmětem protiinfekčního výzkumu (Maleki a Crespo, 2019).

Příjem flavonoidů pozitivně působí na prodloužení délky života. Také by měly snížit riziko kardiovaskulárních onemocnění (Ramos a kol., 2016).

Jejich antioxidační aktivita se odvíjí od počtu a polohy hydroxylových skupin, dále závisí na jejich glykosylaci v molekule (Dádáková a kol., 2001).

Podle stupně oxidace C3 řetězce a jeho substituce se dělí na několik struktur: flavony, flavanony, flavanonoly, katechiny, flavonoly a antokyanidiny.

### **2.6.1 Flavonoly**

Tvoří nejvíce zastoupenou složku flavonoidů v potravinách. Hlavními zástupci jsou kvercetin a kemferol (Dádáková a kol., 2001). Průměrně bývají zastoupeny v koncentracích 15-30 mg/kg čerstvého vzorku. Koncentrace flavonolů se může lišit v jednom kusu ovoce tak, že každá strana ovoce může vykazovat různé koncentrace. Záleží totiž na přísunu světla (Manach a kol., 2004).

Flavonol ve své volné formě je aglykon a tento aglykon je rozpustný v tucích, je tedy lipofilní. Většina flavonolů je syntetizována v rostlině, kde jsou připojeny k cukernému zbytku (glykosidu) a takto jsou rozpustné ve vodě. Cukerné složky, které se nejčastěji

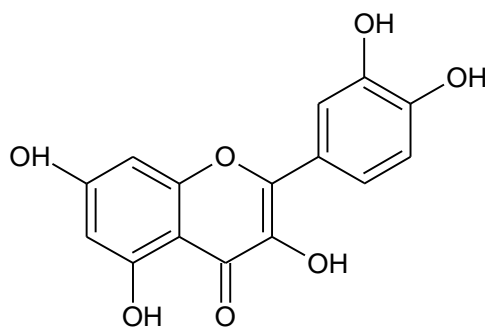
připojují k flavonolům, jsou monosacharidy jako glukóza, galaktóza, xylóza či arabinóza (Dabeek a Maara, 2019).

Vyskytují se v ovoci, zelenině i některých nápojích, avšak v malých koncentracích. Jejich denní příjem se odhaduje jen na 20 mg. Přesto se řadí k nejčastěji sledovaným flavonoidům. To je dáno jejich obchodní dostupností a značnou biologickou aktivitou (Slanina, 2004).

### 2.6.1.1 Kvercetin

Kvercetin má svůj vzorec  $C_{15}H_{20}O_7$ . Můžeme ho označit za jeden z nejvýznamnějších flavonoidů, přesněji řečeno, flavonolů. Jako ostatní flavonoly se vyznačuje jasně žlutou barvou, a tak dává zelenině a ovoci barvu. Jeho čistá forma jsou jehlovité krystalky nebo prášek, který je téměř nerozpustný ve studené vodě a velmi málo rozpustný v horké vodě. Takto se ovšem v přírodě běžně neobjevuje. Kvercetin se vyskytuje hlavně jako glykosid, tedy vázanými cukry. Vlastní více názvů jako třeba soforetin nebo xanthaurin. Najdeme ho v pestré řadě a ovoce a zeleniny (Ulusoy a Sanlier, 2019).

#### Obrázek 3 Kvercetin



Zdroj: vlastní

O nedostatečný příjem kvercetinu se nemusí bát ty osoby, které konzumují po celý rok dostatečné množství ovoce a zeleniny denně. V potravě ho nejčastěji přijímáme ve formě kvercetinových glykosidů (Ulusoy a Sanlier, 2019).

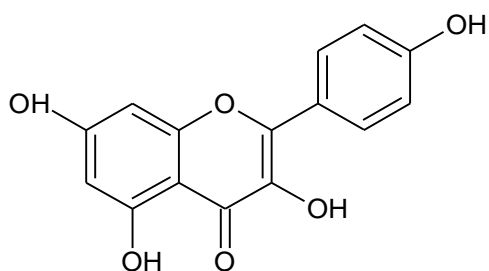
Podle nedávné studie disponuje kvercetin léčivými účinky díky jeho schopnosti deaktivovat reaktivní formy kyslíku, a tím snižuje oxidační stres, který napomáhá vývoji onemocnění. Využití kvercetinu ale pořád zůstává omezené kvůli jeho neochotné rozpustnosti ve vodě (Khursheed, 2019).

Tato přirozená molekula hraje významnou roli v boji proti rakovině. Existuje několik desítek výzkumů zabývajících se jeho preventivními a léčebnými účinky proti rakovině (Ulusoy a Sanlier, 2019). Kvercetin je schopen zpomalit růst maligních buněk. Chová se chemopreventivně. Kvercetin vyhledá v rakovinotvorné buňce více intracelulárních cílů. Podle těch rozlišujeme mnoho mechanismů, které popisují jeho chemopreventivní působení. Chemopreventivní účinky kvercetinu zkoumané na různých modelech zahrnují antioxidační a protizánětlivé působení, regulaci redoxní homeostázy, pozastavení nebo úplné zastavení buněčného cyklu, apoptózu, změny ve vzorcích genové exprese a modulaci enzymů metabolizujících léčivo (Wiley a Sons, 2018).

### 2.6.1.2 *Kemferol*

Kemferol je flavonoidní přírodní sloučenina, která může být extrahována z rostlin. Spadá do flavonoidní skupiny flavonolů. Je to žlutý krystalický prášek rozpustný v horkém ethanolu. Sestává z difenylpropanové struktury, proto je hydrofobní. Je chemicky stabilnější a méně reaktivní oproti kvercetinu, jelikož kemferol obsahuje o jednu hydroxylovou skupinu méně. Má protizánětlivé a antioxidační účinky. Je vhodný pro léčbu chronických i akutních zánětlivých nemocí, kolitidy, obezité, cukrovce. Má blahodárné účinky na srdeční činnost, funkci jater a léčbu rakoviny. Preventivní rakovinné účinky kemferolu byly prokázány u rakoviny jícnu, prsu, děložního čípku, vaječníků či žaludku (Ren a kol., 2019; Dabeek a Maara, 2019).

#### **Obrázek 4 Kemferol**



Zdroj: vlastní

Nejbohatšími rostlinnými surovinami obsahujícími kemferol je listová zelenina, jako je špenát, kapusta nebo kopr. Dále ho najdeme v čajích, angreštu, fazolích, brokolici, zelí, jahodách, kapustě či rajčatech (Ren a kol., 2019; Dabeek a Maara, 2019).

V rostlině se vyskytuje v listech, plodech, semenech.

Podle M. Imrana a kolektivu kemferol navozuje apoptózu v mutovaných buňkách, a naopak na nemutované buňky má ochranný účinek (Imran a kol., 2019).

### **2.6.2 Flavanony**

Hojně se vyskytují v citrusových plodech, především v jejich bílé houbovitě části. Najdeme je ale i v rajčatech a některých aromatických bylinách, jakými je třeba máta. Flavanony jsou nejčastěji glykosylovány na 7. pozici buď neohesperidózou, nebo rutinózou. Některé flavanony mají hořkou chuť (Manach a kol., 2004).

### **2.6.3 Flavony a flavanoly**

Flavony se vyskytují v ovoci a zelenině v menších množstvích než předchozí zástupci. Tato rostlinná barviva se vyznačují žlutým zbarvením. Patří mezi ně především apigenin a luteolin. Mezi jediné jedlé zdroje flavonů se zatím řadí celer a petržel. Monomerní flavanoly jsou nazývány katechiny. Bohatými zdroji katechinů jsou meruňky, čokoláda, ale i zelený čaj. Katechiny mají podrobnější dělení na katechiny a epikatechiny zastoupené v ovoci. Pak jsou flavanoly vyskytující se v čajích a luštěninách a těmi jsou gallokatechin a epigallokatechin gallat. Polymerní flavanoly nesou název proanthocyanidiny. Flavonoly se liší od ostatních flavonoidů tím, že nejsou v potravinách glykosylovány (Manach a kol., 2004).

### **2.6.4 Isoflavony**

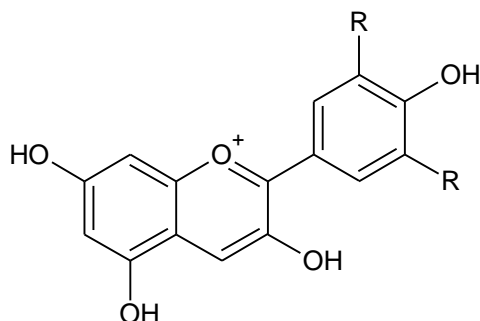
Jsou schopny se vázat na estrogenové receptory, a proto je hodnotíme jako fytoestrogeny. Hlavní zástupci jsou: daidzein, glycitein a genistein. Nacházejí se v luštěninách, např. v sóje nebo čočce. Jejich obsah v sóje a výrobcích z ní však závisí na podmínkách pěstování a následného zpracování (Manach a kol., 2004).

### **2.6.5 Anthokyany**

Tyto rostlinné pigmenty se nachází v rozpuštěné formě v tekutině vakuol epidermálních tkání květů a plodů rostlin. Podle stupně pH mohou být bezbarvé až po různě barevné. Rostlinám a ovoci dodávají růžové, červené či fialové zbarvení např. jahodám a třešním. Najdeme je v hojném množství v ovoci. V menší míře také v červeném víně, listové

i kořenové zelenině. Stabilizují se tvorbou komplexů s dalšími flavonoidy (Manach a kol., 2004).

### Obrázek 5 Anthokyany



Zdroj: vlastní

#### 2.6.6 Flavonoidy v rostlinách

V rostlinách jsou relativně odolné vůči teplu, kyslíku, suchu a mírnému stupni kyselosti, ale mohou být modifikovány světlem. Dostupnost flavonoidů v rostlinách závisí na různých faktorech včetně rostlinného řádu. Distribuce závisí na dostupnosti světla, protože tvorba vyšších oxidovaných flavonoidů se urychluje světlem. V listové zelenině a ovoci vystupují flavonoidy jako glykosidy. Flavonolové glykosidy jsou umístěny převážně v listech, květech a vnějších částech rostlin, tedy i ve slupce ovoce. Pouze malé množství flavonoidů můžeme najít v částech rostlin, které jsou lokalizované pod půdou (Agati a kol., 2012).

#### 2.6.7 Příjem ve stravě

Denní potřebu flavonoidů nelze zcela odhadnout, protože hodnoty závisí na přesném posouzení stravovacích návyků a obsahu v daných potravinách. Potravinové zdroje, denní příjem a biologická dostupnost flavonoidů jsou ovlivněny změnami v typu a růstu rostlin, sezóně, světlem, stupněm zralosti, přípravy jídel a zpracováním. Nejsou tedy známy přesné doporučené hodnoty denního příjmu flavonoidů. Proběhlé výzkumy se týkaly především kvercetinu, kemferolu, myricetinu a méně i luteolinu. Proto lze předpokládat, že celkový příjem flavonoidů a jejich obsah v potravinách je větší než z výzkumů již zmíněných typů (Dabeek a Maara, 2019).

Ve studii z roku 2019 pana Dabeeka a kolektivu se uvádí průměrný denní příjem flavonolů v USA 9-36,2 mg/den. V USA tvoří největší podíl příjmu flavonolů čaj, cibule,

jablko a červené víno. Troufám si usoudit, že tyto zdroje flavonoidů jsou nejčastější i v naší zemi (Dabeek a Maara, 2019).

Ovoce, zelenina a nápoje, jako je čaj a červené víno, jsou bohaté zdroje flavonoidů. Zdroje flavonoidů se mohou lišit podle země původu, kde jsou ovlivněny zdejší kulturou či podnebím. U nás sem řadíme lehce dostupnou brokolici, hroznové víno, cibuli, jablka či kapustu. S těmito zdroji nemají problém ani v Dánsku či Norsku. V Japonsku je převládajícím zdrojem flavonoidů zelený čaj. Více můžeme vidět v následující tabulce.

**Tabulka 1 Průměrný obsah flavonoidů (mg/kg či mg/l) v požitelných částech ovoce a zeleniny a v nápojích**

<b>DRUH</b>	<b>KVERCETIN</b>	<b>KEMFEROL</b>
Kapusta	110	211
Kapusta konzervovaná	45	184
Brokolice	30	30
Štěrbák (endivie)	-	46
Pór	-	30
Cibule	347	-
Fazolové lusky	39	12
Fazolové lusky konzervované	17	3,8
Jahody zahradní	8,6	12
Jablka	36	-
Hrušky	6,4	-
Třešně	15	-
Červený rybíz	13	-
Meruňky	25	-
Švestky	9	-
Hroznové víno	13,5	-
Červená vína	4-16	-
Čaj (výluh)	10-25	-

*Zdroj: Funkční potraviny, P. Kalač, 2003*

Z tabulky můžeme vyčíst největší podíl flavonoidů v čajích, jablkách a cibuli. Nejvyšší obsah flavonoidů je podle P. Kalače ve slupkách červených odrůd cibule, a to 25 000 – 65 000 mg/kg.

**Tabulka 2 Přehled nejvýznamnějších zdrojů flavonoidů ve světě**

Země	Nejvýznamnější zdroj flavonoidů
Dánsko	Čaj, cibule, jablka
Finsko	Cibule, jablka
Řecko	Ovoce a zelenina
Itálie	Červené víno, polévky, ovoce, zelenina
Japonsko	Zelený čaj
Nizozemí	Čaje, cibule, jablka
USA	Cibule, černý čaj

*Zdroj: Dietary Flavonols: Chemistry, Food Content, and Metabolism, A. Aherne, 2002*

Příjem flavonoidů prostřednictvím potravy se liší v závislosti na kulinářských dovednostech a zvycích každé země (Sanlier a Atik, 2018).

### **2.6.8 Faktory ovlivňující obsah flavonoidů v zelenině**

Obsah flavonoidů v potravinách závisí na intenzitě slunečního záření. V konzervovaných potravinách dochází ke snížení kvality potravin a ztrátě flavonoidů. Potravina tedy pro nás není natolik obohacující jako v čerstvém stavu. Obsah flavonoidů v rostlinách je silně ovlivněn vnějšími faktory, jako je typ rostliny, její podmínky k růstu, období, klima, stupeň zralosti, přípravy potravin a zpracování.

Flavonoidy jsou látky rozpustné ve vodě. Vařením v páře dochází k malé ztrátě flavonoidních látek, jelikož nepříjdou do přímého kontaktu s vodou, ve které by se rozpustily (Goméz-Limia a kol., 2018).



### 3 Botanická část

Volně rostoucí rostliny byly využívány našimi předky už od pradávna nejen pro léčbu různých stavů, ale i jako potravinové doplňky. Volně rostoucí byliny mohou poskytovat skvělou alternativu v léčbě různých nemocí. Jsou ceněny nejen pro jejich aroma a chuť, ale i pro jejich dostupnost. Poskytují spousty zdravotních benefitů díky množství fytochemikálií, polysacharidů, peptidů či sulfátových sloučenin. Tyto a další látky dodávají rostlině protirakovinné, antioxidační, antimykotické, antibakteriální, protizánětlivé a další účinky na zdraví člověka. Soubor rostlin této bakalářské práce lze označit za funkční potraviny, jelikož mají blahodárné účinky na jednu a více funkcí lidského těla ve smyslu zmírnění příznaků nemoci nebo zlepšení zdravotního stavu a psychické pohody (Mishra a kol., 2018).

#### 3.1 *Kopřiva dvoudomá (Urtica dioica L.)*

##### 3.1.1 *Popis*

Řadí se do čeledi kopřivovitých. Tato krytosemenná bylina dorůstá výšky 40-150 cm. Nekořenující kopřiva dvoudomá je proslulá svými štětinovými žahavými chloupky. Chloupky se dají popsat jako rovné, pichlavé, duté a nevětvené. Nemá nijak barevně nápadné květy. Jedná se tedy o rostlinu vysokou až několik centimetrů, obalenou chlupatými tmavě zelenými listy ve tvaru srdce. Řapíkaté nesrostlé listy mají nápadné pilovité výběžky. Kuličkovité květy vyrůstají u listů (Kubát, 2002).

Je to typická nitrofilní rostlina. To znamená, že vyžaduje větší přístup dusíku z půdy. Díky tomu se rostlině více daří v růstu, ale mohou se v ní hromadit škodlivé dusičnany. Daří se jí ve vlhkých, těžkých půdách, kde má dostatečný přísun živin (Radman a kol., 2015).

Kopřiva dvoudomá není v České republice chráněna, jelikož se jedná o běžný a neohrožený druh. Najdeme ji v celé Evropě, nejčastěji v lesích, dále v křovinách, příkopech, u polí, na zahradách, podél řek, jezer či potoků (Schauer, 2014; Rajput, 2018).

Asi každý se již popálil o žahavé chloupky kopřivy. Udává se, že je to způsobeno kyselinou mravenčí. K popálení dojde tím způsobem, že při otření se o kopřivu se chloupky na listech ohnou, a tím vyloučí dráždivou tekutinu, která pálí a svědí. Právě kyselina mravenčí a histamin působí při popálení protizánětlivě. Už naši předkové věděli,

že popálení kopřivou má pro náš organismus blahodárné účinky. Šlehání kopřivami se v minulosti dokonce užívalo jako léčba některých nemocí (Rajput, 2018).

Všechny části kopřivy dvoudomé jsou využitelné, proto má široké využití, a to v kosmetickém, lékařském, zemědělském, potravinářském a textilním průmyslu. (Radman a kol., 2015).

### **3.1.2 Sběr**

V dnešní době si ji většina lidí alespoň jednou ročně „dopřeje“ ve velikonoční nádivce, ovšem po zbytek roku si na ni ani nevzpomenou. Můžeme ji například usušit a udělat si z ní zdraví prospěšný čaj. Samozřejmě bychom ji neměli trhat na sídlištích nebo u silnic, kde hrozí kontaminace psí močí a celkové nečistoty od silnic.

Vhodnější ke sběru je mladší kopřiva než starší, oschlá a uvadající. Čerstvá bylina je vždy nejlepší bylina, ale pokud ji chceme užívat po celý rok, je na místě ji usušit a skladovat (Shonte, 2017).

Před natrháním zásob této byliny bychom se měli obléci do vhodného oděvu, přes který nás kopřiva nebude pálit a vzít si silné rukavice.

### **3.1.3 Užití v kuchyni**

Čerstvá kopřiva dvoudomá je zdrojem bílkovin a nízkokalorických zdrojů živin (Radman a kol., 2015). Listy kopřivy jsou snadno stravitelné pro náš organismus (Jan a kol., 2017). Mladé listy můžeme využít na výrobu salátu nebo ji přidat do špenátu. V tomto případě je vhodné listy spařit, abychom je zbavily jejich žahavosti a nepopálili si ústa. Tím však kopřivu ochudíme o dávku živin, které nabízí čerstvé listy. V případě této byliny však nemáme na vybranou, pokud si nechceme její konzumaci způsobit nepříjemnosti (Peleška, 2010). Naši předkové si dokonce vařili polévku „kopřivačku“ (Beranová, 2015). Tradiční je využití kopřiv do velikonoční nádivky. Vařením kopřivy snížíme její hořkost a žahavost, což je zapříčiněno ztrátou rozpustných fenolových sloučenin (Shonte a kol., 2017).

Využít můžeme celou rostlinu. Při užití do pokrmů je vhodné ji nejdříve spařit, kvůli žahavým chloupkům. Ovšem kopřiva zůstává poměrně nevyužitá. Je to možná dáno její žahavostí, sezónním růstem nebo neznalostí o jejích účincích. Po sklizni kopřiva rychle

uvadá, je proto vhodná k přímé konzumaci v sezóně. Uchovat ji můžeme za pomoci sušení, tím ale mění svou charakteristickou vůni, barvu a chuť (Shonte a kol., 2017).

Čaj připravený z listů kopřivy dvoudomé působí jako lék na sezónní rýmu a podporuje krvetvorbu (Upton, 2013).

### **3.1.4 Zdravotní účinky**

Léčivé účinky kopřivy byly tradičně využívány k léčbě revmatismu či artritidy už našimi předky. Dále využívali kopřivu jako lék první pomoci při popálení, kousnutí či bodnutí zvířetem. Kopřiva dvoudomá byla využívána jako tradiční bylina při nefritidě, dně, anémii, ekzému nebo artritidě. Její účinky mají antioxidační, antivirový, protizánětlivý efekt. Také má mít pozitivní vliv proti rakovině, cukrovce a působit jako přírodní diuretikum. Chemické sloučeniny, vyskytující se v kopřivě dvoudomé a dalších druzích rodu urtica, mohou přispět k vývinu nových léků (Rajput, 2018).

### **Obrázek 6 Kopřiva dvoudomá**



Zdroj: vlastní

Místo: Týn nad Vltavou  
Okres: České Budějovice  
Kraj: Jihočeský  
Stanoviště: okraj lesa na Semenci  
Půda: hlinitá  
Fotografovala: Simona Šusterová  
Datum fotografie: 1. 6. 2019

### **3.2 *Bršlice kozí noha (Aegopodium podgraria L.)***

#### **3.2.1 *Popis***

Spadá do čeledi miříkovitých. Bršlice je hojně zastoupená bylina v našich lesích, ale i zahrádkách. Nemá problém se kdekoli usídlit. Její dlouhé podzemní výběžky zakoření u silnic, polí a luk, ve městech i na vsích, u vod, ale i na sídlištích. Neklade velké nároky na svůj růst. Ovšem preferuje vlhčí půdu spíše ve stínu či polostínu. Pověštinou roste v hustých koloniích. Nejvíce se jí daří od června do srpna (Schauer, 2013).

Bršlice kozí noha je na první pohled lehce zaměnitelná s kerblíkem lesním. Avšak když se podíváme pořádně, zjistíme, že velkou roli zde hrají listy rostlin. Podle nich bezpečně rozeznáme, o jakou rostlinu se jedná, ačkoli květy se mohou pouhým okem zdát velice podobné. Listy bršlice jsou celistvé, kdežto listy kerblíku mají naprosto jiný tvar. Dají se popsat jako paprskovité či rozčleněné (Schauer, 2013).

Bršlici kozí nohu poznáme podle velkých bílých okvětních lístků. Dorůstá do výšky až půl metru. Rostliny sídlí blízko u sebe ve shlucích. Listy jsou vejčité, zacelené, podlouhlé do špičky a jejich žilnatina je zpeřená (Peleška, 2010).

#### **3.2.2 *Užití v kuchyni***

I u této jarní byliny se pro užití v kuchyni sbírají především listy. Listová zelenina se jí především čerstvá, nijak nezpracovaná (Gunathilaka a kol., 2018). Čím je zelenina mladší, tím je lepší. Obsahuje nepřehledné množství minerálů a vzácnějších prvků, jako jsou zinek, draslík, hořčík nebo mangan (Orav, 2010). Stejně jako u každé rostliny určené ke konzumaci se nedoporučuje ji sbírat v parcích, u sídlišť, hřišť a dalších míst, kde hrozí kontaminace psí močí. Také je nejvhodnější čerstvá, aby si uchovala všechny své vitamíny a další živiny. Tepelnou úpravou je znehodnotíme (Goméz-Limia a kol, 2018).

Leckteré recepty můžeme obohatit o listy bršlice, například ji přidat do polévek, smoothie nápojů a dalších koktejlů, salátů všech druhů, přidat ji do špenátu, zeleninových pokrmů, masových rolád nebo jen nasekanými listy posypat chléb s pomazánkou. Vegetariáni jí nepohrdnou ani v kuskusu či bulguru (Peleška, 2010).

### **3.2.3 Zdravotní účinky**

Bršlice kozí noha je spojena se známou nemocí zvanou dna. Toto onemocnění se vyznačuje zvýšeným množstvím kyseliny močové v organismu. Projevuje se bolestí kloubů, ve kterých se usazují krystalky kyseliny močové, nejčastěji postihuje palce u nohou. Také je nazývána „nemoc králů“, jelikož by měla vznikat u osob se zvýšenou konzumací masa, a to si v dávných dobách mohli dovolit jen králové. V dnešní době touto nemocí onemocní leckdo. Zvýšené riziko však mají obézní osoby a asi menší riziko hrozí vegetariánům. Každopádně bršlice kozí noha rozpouští kyselinu močovou, a tím ulevuje od bolesti osobám postiženým dnou. Od projevu této nemoci nese bylina svůj název. Lidé trpící dnou a budící se bolestmi nohou měli tzv. „kozí nohu“ a už naši předkové věděli, že právě tato zázračná bylina dokáže od nemoci ulevit (Tovchiga, 2017).

To však není vše, čeho je tato rostlina schopná. Nasekané listy přiložené na ránu podpoří rychlejší hojení rány. Bršlice kozí noha je tedy velmi vhodná pro domácí obklady na různá zranění, hemoroidy nebo i bolestivé klouby. Má zklidňující účinky a uvolňuje křeče. Pomůže i na štípance od komárů, které zklidní a nesvědí. Dále snižuje srážlivost krve, takže slouží jako prevence embolií (Orav, 2010).

Nebyl vůbec problém bršlici najít. Roste doslova na každém kroku v našem městě. I po cestě do Českých Budějovic jsou jí plné lesy, louky a hojně se vyskytuje u silnic.

### Obrázek 7 Bršlice kozí noha



Zdroj: vlastní

Místo: Bechyně

Okres: Tábor

Kraj: Jihočeský

Stanoviště: u Stádleckého mostu

Půda: hlinitá, vlhká

Fotografovala: Simona Šusterová

Datum fotografie: 8. 6. 2019

### 3.3 Šťovík kyselý (*Rumex acetosa* L.)

#### 3.3.1 Popis

Tato vytrvalá rostlina spadá do čeledi rdesnovité. Dorůstá 30-100 cm do výšky. Je vytrvalá a není nijak náročná. Měli bychom ji najít po celé Evropě, na některých místech Číny a také Afriky. U nás se jí daří od května do července (Schauer, 2013).

Známe více druhů šťovíku. Některé jsou šlechtěné pro lepší využitelnost v kuchyni, pro jejich o něco lepší chuť. Já se však zabývám tímto nejvíce rozšířeným druhem v České republice, jelikož je dostupný všem.

Šťovík byl donedávna v lidové kultuře klasickou salátovou rostlinou. Dějiny říkají, že se ve starém Římě prodával bohatým (Beranová, 2015).

Tato zimovzdorná rostlina se ve své horní části rozvětňuje do několika větví, na kterých nepřehlédneme jednopohlavní, narůžovělé, drobné nepatrné květy. Na šťovíku kyselém můžeme pozorovat 2 druhy listů, a to řapíkaté i přisedlé. Řapíkaté, vejčité listy podlouhlé do tvaru špičky shledáme většinou ve spodku rostliny, kdežto v horní části jsou listy přisedlé ke stonku. Rostlina dorůstá až 100 cm. Květenství šťovíku kyselého je prořídle, vzpřímené a přerušované (Schauer, 2013).

### **3.3.2 Užití v kuchyni**

Šťovík kyselý se používá jako tradiční potravina a bylinný přípravek, ačkoli naši předkové neměli dostatečné množství informací o jeho možné nebezpečnosti (Mishra a kol., 2018).

Snad každé malé dítě poznalo kyselou chuť šťovíku. Sbírají se přednostně mladé křehké listy, ale i kořen šťovíku má své využití. Vařením šťovíku se v něm sníží koncentrace šťavelové kyseliny na zanedbatelné množství (Bello a kol., 2019).

Je vhodný jako přísada pro osvěžující smoothie nápoj, jako koření do polévek nebo ho můžeme podávat k sýrům a zdobit jím další jídla. Osvěží v horkých letních dnech. Jeho mladé listy jsou vhodné do salátů, starší šťovík už je hořký, a proto není vhodný do žádných pokrmů. Můžeme ho přidat také do masové rolády nebo pomazánky. Zdatnější kuchaři ho mohou zařadit jako přísadu do domácího bylinkového másla. Vegetariáni ho také určitě ocení a na jaře zařadí do svých jídelníčků. Měli bychom mu dát šanci zpestřit jím naši kuchyni. V dřívějších dobách byl na Ukrajině šťovík potřebnou surovinou k výrobě polévky s názvem „ščí“ (Beranová, 2015).

Neměli bychom to s ním ale přehánět, kvůli obsahu kyseliny šťavelové, která tělu ubírá vápník. Je tedy vhodné při větší konzumaci šťovíku dodat organismu mléčné výrobky (Williams a kol., 2016).

### 3.3.3 Účinky na zdraví

Díky obsahu vitamínu C je vhodný pro podporu imunity. Je bohatý také na vitamín A a B1, dále hlavně na železo či draslík. Působí blahodárně pro podporu krev tvorby a činnosti srdce. Také čistí trávicí trakt a podporuje trávení. Proto je vhodný pro populární jarní detox, jemuž mnoho žen v dnešní době holduje. Působí pozitivně na stěnu sliznic, dále má močopudné účinky. Jeho osvěžující chuť má povzbudivé účinky. Blahodárné účinky dodá i pokožce (Mishra a kol, 2018).

Má ale i svá omezení. Užívat by ho neměli lidé trpící dnou či ledvinovými kameny, jelikož šťavelová kyselina by mohla s vápníkem utvořit nerozpustné soli, a tím člověku velmi přihoršit. Je však možnost šťovík tepelně zpracovat a pak je jeho konzumace i pro náchylnější osoby bezpečná (Williams a kol., 2016).

#### Obrázek 8 Šťovík kyselý



Zdroj: vlastní



Místo: pokusný pozemek PF  
Okres: Čtyři Dvory, České Budějovice  
Kraj: Jihočeský  
Stanoviště: travnaté stanoviště  
Půda: hlinitá, vlhká po dešti  
Fotografovala: doc. Dadáková  
Datum fotografie: 7. 6. 2019

### **3.4 Česnáček lékařský (*Alliaria petiolata*, M. Bieb., Cavara et Grande)**

#### **3.4.1 Popis**

Tato bylina spadá do čeledi brukvovitých. Může být vytrvalou rostlinou, klasicky je však dvouletý. Česnáček bychom měli najít od dubna do června na krajích lesů, v křovinách, parcích, zahradách i kompostech, podél stinných zdí, dále třeba u sídlišť nebo hřbitovů. Vyskytuje se téměř všude, a proto se nejedná ani o ohroženou ani chráněnou bylinu (Schauer, 2013).

Rád si vybere půdu vlhčí a bohatou na živiny, především na dusík. Upřednostní teplé počasí. Najdeme ho téměř v celé Evropě, dokonce i v Africe. Je schopný dorůst až 100 cm, ale průměrná délka se pohybuje kolem 20–100 cm. Po rozemnutí listy zapáchají po česneku. Toto aroma nese celá rostlina od kořenů po listy.

Poznáme ho podle bílých, malých, drobných květů. Koruna obsahuje většinou 4 bílé volné kvítky. Hranaté vroubkované listy jsou ledvinovitého tvaru s dlouhým řapíkem. Žilnatina listu je síťovitá (Schauer, 2013).

#### **3.4.2 Užití v kuchyni**

Česnáček byl od pradávna vyhledávanou listovou zeleninou především v předjaří, kdy je po zimě nedostatek čerstvé zeleniny. Mladé listy česnáčku lékařského si lidé dávali např. do salátů. Pro kulinářství se tedy využívají především čerstvé listy rostliny. Můžeme ho zařadit do nádivky či sekané a dalších slaných pokrmů. Může také obohatit vegetariánskou a dietní kuchyni (Beranová, 2015).

Chutná jako česnek s hořčicí a sušením či mražením tato chuť ztrácí na síle. Proto je nejlepší čerstvý. Někdo však popisuje jeho chuť jako hořkou, ale určitě není na škodu ho tělu dopřát a využít tohoto daru přírody (Schauer, 2013).

### 3.4.3 Zdravotní účinky

Jelikož česnáček lékařský obsahuje výrazné množství askorbové kyseliny, podílí se na mnoha fyziologických procesech v organismu (Paciolla a kol., 2019).

Česnáček lékařský má dezinfekční účinky. Můžeme ho přiložit na poranění kůže nebo hnisající rány jako obklad. Přežvykování česnáčku lékařského pozitivně působí proti paradentóze a jiným zánětům dutiny ústní. Také by měl mít blahodárny vliv při onemocnění slinivky a žlučníku (Pazdera, 2015).

#### Obrázek 9 Kvetoucí česnáček lékařský



Zdroj: vlastní

Místo: Týn nad Vltavou

Okres: České Budějovice

Kraj: Jihočeský

Stanoviště: polozastíněná stráň u silnice

Půda: suchá

Fotografovala: Simona Šusterová

Datum fotografie: 16. 4. 2020

## 4 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC)

### 4.1 Úvod

V originálním znění - High performance liquid chromatography je separační analytická metoda vyvinutá na počátku 70. let z plynové chromatografie. Jako všechny chromatografické metody i HPLC umožňuje separaci vzorku mezi stacionární (sorbent) a mobilní fází (eluent). Můžeme tak vyhodnotit přítomnost daných látek v analytu a určit, v jaké koncentraci se zde nachází. Poskytne nám kvalitativní i kvantitativní informace o vzorku.

Díky schopnosti pracovat i s malou koncentrací analytu můžeme mezi výhody HPLC zařadit citlivost, rychlost či širokou oblast využití. Máme možnost separovat tuhé látky dobře rozpustné ve vodě nebo v organických rozpouštědlech, polární i nepolární látky, ionty. Jako příklad uvedu vitamíny, různá léčiva, bílkoviny anebo v mém případě biologicky aktivní látky a další fenolické látky. Jelikož při této metodě není nutné převádět vzorek na plyn, můžeme při standardní laboratorní teplotě pracovat i s tepelně nestálými a netěkavými látkami. Má i své nevýhody, mezi které řadíme finanční náklady oproti jiným laboratorním přístrojům, dále složitější mechanismus separace (Klouda, 2003).

Existují další druhy kapalinové chromatografie – nízkotlaká a chromatografie na tenké vrstvě, LSC – adsorpční (sorbentem je tuhá látka). Standardně využívaná je vysokoúčinná kapalinová chromatografie, jelikož má širokou škálu využití a dokáže nejlépe separovat látky za krátkou dobu (Štulík, 2004).

Kapalinová chromatografie je v dnešní době nejvhodnější analytickou a separační metodou pro výzkum polyfenolických sloučenin (Ignat, 2011).

### 4.2 Stavba systému

Analýza probíhá na přístroji zvaném kapalinový chromatograf, ve kterém dochází k pohybu analytu od začátku systému až na konec a k separaci jednotlivých složek. Samotná HPLC vyžaduje tři hlavní složky, kterými jsou mobilní fáze, stacionární fáze a analyzovaný vzorek. Podle svého názvu se vyznačuje tím, že na rozdíl od ostatních metod má vysokotlaké čerpadlo, které zajišťuje stálý tok mobilní fáze. Pro tuto metodu by měl být dostačující tlak 10 MPa.

Přístroj se skládá z mobilní fáze, kterou zde bývá kapalina, dále zde najdeme dávkovač, již zmíněné vysokotlaké čerpadlo (většinou pístové), kolonu, ve které je zakotvena stacionární fáze, citlivý detektor a počítač pro zpracování naměřených dat. Nesmíme opomenout pojem „retenční objem“. Tento termín je velmi důležitý pro cestu analytu systémem, tedy aby se analyt dostal od začátku na konec systému (Klouda, 2003).

**Obrázek 10** Přístroj HPLC



Zdroj: vlastní

### **4.3 Mechanismus HPLC**

Analyt je unášen ve směru toku mobilní fáze. Ta je v pohybu díky vysokému tlaku doprovázejícímu celou metodu. Jednotlivé složky opouští systém v odlišných časech, což nám napomáhá k jejich detekci a odlišení. Využívá se rozdílných vlastností analytu a mobilní fáze a jsou snímány spektrofotometrickým detektorem opatřeným monochromátorem nebo fotometrickým detektorem s nastavitelnou vlnovou délkou.

Detektor je důležitý pro udržení přesnosti a stability analýzy. Cílem je snížit nebo zamezit ztráty během separace z původního komplexu (Bonta, 2017).

Po průchodu látky kolonou snímá detektor její přítomnost a koncentraci v eluátu a zaznamená se na chromatogramu ve formě píku. Každý pík odpovídá jedné složce analytu. Klasický pík by se měl podobat Gaussovské křivce. U píku hodnotíme jeho výšku, šířku a plochu. Kromě struktury píku také hodnotíme index lomu, fluorescenci či absorpenci (Křížek a Šíma, 2015).

#### **4.4 Kolony**

Kolony umožňují chromatografickou separaci složek vzorku. Měly by odolat vysokému tlaku. Nejvíce používány jsou náplňové kolony. Je důležité vybrat správnou kolonu s vhodnou náplní. Jsou to většinou ocelové trubice o velikosti až 100 cm, naplněné sorbentem. Nejčastěji se však užívají kolony s délkou do 25 cm. Každá kolona se vyznačuje svou pórovitostí, délkou a náplní. Velikost zrn sorbentu je nejčastější v rozmezí 5-10  $\mu\text{m}$ . Existují i s velikostí 2  $\mu\text{m}$  a méně. Sorbenty bývají polární nemodifikované adsorbenty (silikagel – oxid křemičitý, alumina - oxid hlinitý) (Klouda, 2003).

Většina separací je nesena na sloupcích s reverzní fází (RP). Rutinně využívané kolony pro separaci přírodních rostlinných látek jsou RP kolony. Například pro fenolové sloučeniny jsou využívány kolony s oxidem křemičitým.

Dále existují kolony C18 na bázi křemíku. Ty obsahují alifatické C18 ligandy, vodu a volné silanoly (Bonta, 2017).

#### **4.5 Stacionární fáze**

Pro co nejkvalitnější separaci se využívají kolony naplněné stacionární fází s malými jednotnými (homogenními) částicemi. To znamená, že čím jsou částice stacionární fáze menší, tím je separace rychlejší a účinnější.

Nejvíce používaný je silikagel, jelikož lze připravit ve velmi čisté formě a dají se upravovat jeho fyzikální vlastnosti. Má velký objem pórů, což snižuje zadržování analytu. Silikagel zde funguje jako polární adsorbent, má kyselý povrch, tudíž může být použit jako iontoměnič, ale musí se dbát, aby pH mobilní fáze nepřesáhlo 8. Mohlo by dojít

k rozpuštění silikagelu, jelikož jeho stabilita stojí mezi 2-8 pH, dále by mohlo dojít ke snížení účinnosti kolony a znehodnocení celého výsledku (Sýkora a kol., 2007).

#### **4.6 Mobilní fáze**

Mobilní fáze pro HPLC musí být v kapalném skupenství a splňovat určité podmínky, mezi které můžeme zahrnout schopnost dostatečně rychlého proudění systémem, nemísitelnost s ostatními jednotkami systému (analyt, stacionární fáze), nenarušovat konečný výsledek, tedy detekci měřeného vzorku detektorem. Vhodnou mobilní fází je obecně voda a organická rozpouštědla, jako je methanol či acetonitril spolu s malými koncentracemi mravenčí kyseliny nebo octové kyseliny. Viskozita mobilní fáze může ovlivnit průtok kolonou, proto by neměla být příliš viskózní, aby při daném tlaku protékala vhodnou rychlostí. Její složení nesmí narušovat unášený analyt ani stacionární fázi. Došlo by ke znehodnocení celého výsledku (Bonta, 2017).

#### **4.7 Separace**

Separace mezi dvěma fázemi na základě různé rozpustnosti se využívá v metodě HPLC. K separaci dochází na koloně se sorbentem, kde se rozdělují – separují složky analytu dle fyzikálně-chemických vlastností. Vliv na separaci má kvalita, účinnost kolony, uspořádání částic v koloně a jejich velikost, dále i velikost pórů v náplni kolony, vlastnosti zkoumaných analytů, případné interakce mezi analytem a prostředím, jemuž je při separaci vystaven. Svůj vliv zde také představuje i pracovní teplota. Dále vyplývá z teorie, že separace je účinnější tehdy, pokud mají částice pravidelný tvar, jednotnou velikost a kolona je jimi homogenně naplněna (Klouda, 2003).

Během separace dochází ke kontaktu stacionární fáze s mobilní fází, mobilní fází s analytem a stacionární fází s analytem. Mobilní fází je vzorek unášen a na stacionární fází dochází k jeho absorpci. Mezi oběma fázemi by měla fungovat určitá rovnováha a neměly by se mísit, navzájem vymývat nebo jinak narušovat.

Při použití polární stacionární fáze dojde v koloně k menšímu uchycování nepolárních látek. Naopak při využití nepolární stacionární fáze jsou v menší míře zachycovány polární látky (Opekar, 2003).

#### **4.8 Modernizace HPLC**

Ve světě se konají různé konference, kde se probírají vylepšení a novinky z oblasti analytických metod. Jednou z největších konferencí tohoto druhu je Pittcon konaná v USA, kde byly v roce 2005 shrnuty poznatky týkající se vysokoúčinné chromatografie. Mezi trendy z roku 2005 z konference Pittcon můžeme zařadit zavedení ultravysokých tlaků, kolony s menším vnitřním průměrem (mikro a kapilárních kolon), zkracování kolon, miniaturizace celých separačních systémů, zmenšení zrn sorbentu (Sýkora a kol.,2007).



## 5 Praktická část

### 5.1 Pomůcky

#### 5.1.1 Seznam chemikálií a standardů

Askorbová kyselina, p.a., Penta, ČR  
Methanol, p.a., Penta, ČR  
35 % HCl, p.a., Penta, ČR  
Kvercetin, Aldrich, Německo  
Mravenčí kyselina, p.a., Penta, ČR  
Naftyloctová kyselina, Fluka, ČR  
Acetonitril, Gradient grade L.C., Německo  
Hydrogenuhlíčitán sodný, p.a., Penta, ČR  
Chelaton III, p.a., Lachema, ČR  
Mořský písek, Lachema, ČR  
Octová kyselina, p.a., Penta, ČR  
Vinná kyselina, p.a., Penta, ČR  
Mléčná kyselina, p.a., Penta, ČR  
Fumarová kyselina, p.a., Penta, ČR  
Citrónová kyselina, p.a., Penta, ČR  
Jablečná kyselina, p.a., Penta, ČR  
Jantarová kyselina, p.a., Penta, ČR

#### 5.1.2 Seznam přístrojů a pomůcek

Kromě běžně užívaných laboratorních pomůcek a laboratorního skla jsem použila:

Analytické váhy AB 204 (Metler Toledo, Švýcarsko)  
Termostatovaná vodní lázeň EL-20R (Kavalier, ČR)  
Odstředivka Sigma 2-5 (Německo)  
Lyofilizátor L 10-55 PRO (Gregorinstrument, ČR)  
Extrakční aparatura pro SPE (vývojové dílny ZF JU)  
Filtry ze skleněných mikrovláken (Z7) (Fishe Scientific, ČR)  
Laboratorní mixér GM 200 (Retsch, Německo)  
Kolonky Lichrolut RP-18 (Merck, Německo)  
pH metr pH/Ion 510 (Eutech Instruments, Singapur)

Kapalinový chromatograf Agilent 1200 Series Rapid Resolution LC systém (Agilent Technologies, USA)

Kolona Zorbax SB-C18 (4,6 x 50 mm, zrnitost 1,8 µm, Phenomenex, USA)

Kolona Zorbax SB-C8 (4,6 x 150 mm, zrnitost 5 µm) (Phenomenex, USA)

Kolona Synergy HYDRO (4,6 x 150 mm, zrnitost 4 µm, Phenomenex, USA)

## 5.2 *Materiál*

K analýze byl použit soubor vybraných rostlin tradičně využívaných jako zelenina. Následující tabulka ukazuje seznam analyzovaného materiálu. Všechny rostliny byly sbírány na jaře roku 2019 v okrese České Budějovice.

**Tabulka 3 Analyzované rostliny**

Označení	Český název	Latinský název
BP-1	Kopřiva dvoudomá	Urtica dioica
BP-2	Česnáček lékařský	Alliaria petiolata
BP-3	Bršlice kozí noha	Aegopodium podagraria
BP-4	Šťovík kyselý	Rumex acetosa

*Zdroj: vlastní*

Vzorky vybraných druhů byly pořízeny v březnu 2019 v prostorách pokusného pozemku PF JU v Českých Budějovicích (48.9755189N, 14.4480100E). Vzorky byly povrchově očištěny a okamžitě zamrazeny. Část vzorku byla lyofilizována (24 hodin, teplota -55 °C, 0,1 mbar, lyofilizátor L4-55PRO, Gregor Instruments). Lyofilizovaný materiál byl poté homogenizován na laboratorním mlýnku a do analýzy byl homogenizovaný materiál uchováván v mrazicím boxu (-18 °C) v uzavřené plastové vzorkovnici. Takto upravený materiál byl použit pro stanovení flavonoidních aglykonů.

Obsah askorbové kyseliny a identifikace organických kyselin byly provedeny ve zmraženém materiálu.

### **5.3 Použité metody**

#### **5.3.1 Stanovení celkového kvercetinu a dalších aglykonů v lyofilizovaném materiálu**

Tato metodika je založena na publikované práci (Dadáková E. a kol., 2001) a zakončena HPLC. Kyselou hydrolyzou materiálu se uvolní flavonoidní aglykony z vazby na sacharid a stanoví se jejich celkový obsah. Vedle kvercetinu, který je nejčastější, se touto metodou dají ještě stanovit: myricetin, morin, luteolin, apigenin a kemferol.

##### **5.3.1.1 Postup přípravy vzorku**

V první řadě jsem navázila 0,25 g směsi homogenního lyofilizovaného rostlinného materiálu na analytické váze do 100 ml varné baňky. Do každé baňky jsem přidala 80 mg askorbové kyseliny, 12,5 ml methanolu, 7,5 ml vody a 5 ml 6 M HCl pomocí odměrného válce. Poté jsem tuto směs umístila pod zpětný chladič, kde se zahřívala po dobu 2 hodin ve vodní lázni na 90 °C. Po ochlazení jsem obsah každé baňky neutralizovala 2 g NaHCO<sub>3</sub> a kvantitativně převedla do odstředivých kyvet, ve kterých jsem materiál odstředila při 3500 otáčkách 15 minut. Po vyjmutí z centrifugy jsem jednotlivé baňky vypláchla 7,5 ml methanolu a vodou a odstředila ještě 2x (podruhé bez methanolu). Spojené supernatanty jsem zředila v 500 ml kádince vodou na 200 ml a upravila hodnotu pH směsi pomocí pH-metru na 3. Dále byla na řadě práce s vakuovou filtrační aparaturou, ve které jsem již upravený materiál zfiltrovala přes filtr ze skleněných vláken. Zbytky na filtru jsem promyla pomocí 5 ml methanolu. Hotový filtrát jsem převedla kvantitativně do 500 ml odměrné baňky a doplnila po rysku.

**Obrázek 11 Zpětný chladič**



*Zdroj: vlastní*

Pro extrakci z kapaliny na pevnou fázi (SPE – solid phase extraction) byly použity kolonky RP – 18 (Merck) pro zkoncentrování kvercetinu a odstranění polárních látek. Kolonky jsem kondiciovala promytím 10 ml methanolu a pak 10 ml vody. Vzorek se před aplikací kolonky ředil podle koncentrace obsahových látek. Pro ředění jsem použila připravený 5% roztok methanolu s hodnotou pH 3,5. Poté jsem kolonky sušila 20 minut proudícím vzduchem.

Zachycené látky jsem vymyla z kolonky pomocí 1,4 ml methanolu. Jako vnitřní standard jsem přidala k získanému vzorku 200  $\mu\text{g}$   $\alpha$ -naftyloctové kyseliny v methanolicím roztoku.

**Obrázek 12 SPE extrakce**



*Zdroj: vlastní*

### **5.3.1.2 Měření kvercetinů pomocí HPLC**

Vzorky byly analyzovány na kapalinovém chromatografu Agilent 1200 Series Rapid Resolution LC System. Koloně byla použita Zorbax SB-C18 (4,6 x 50 mm, zrnitost 1,8  $\mu\text{m}$ ).

Využité mobilní fáze obsahovaly acetonitril, kyselinu mravenčí a vodu. Mobilní fáze měly následující složení:

A: 5 % acetonitril, 0,1 % mravenčí kyselina ve vodě

B: 0,1 % mravenčí kyselina v acetonitrilu

Analýza se prováděla při tomto gradientu (v % B fáze):

**Tabulka 4 Gradientová eluce**

ČAS (min)	% B
0	20
1	25
5	30
7	50
9	20
15	20

*Zdroj: vlastní*

Do přístroje jsem nástřikem vpravila 5  $\mu$ l vzorku. Proces probíhal za teploty 25 °C. Absorbanci jsem odečetla při vlnových délkách 270 nm. Poměr ploch píku analytu a vnitřního standardu se odečítá jako tzv. analytická odezva. Kvantifikaci jsem provedla pomocí standardu kvercetinu v pracovním rozsahu 5-100 mg/kg čerstvého materiálu.

Stejným způsobem se stanovil obsah kemferolu.

### **5.3.2 Stanovení kyseliny L-askorbové v čerstvém materiálu**

Tento postup se inspirovuje publikovanou prací Abida Begum and S. Harikrishna (2010). Podmínky pro chromatografickou separaci pak byly sestaveny na pracovišti katedry aplikované chemie. V mé bakalářské práci vitamín C zastupuje L – askorbová kyselina a další příbuzné látky (L–dehydroaskorbová). Zde bylo zapotřebí zabránit oxidaci askorbové kyseliny, jelikož při zpracování rychle podléhá oxidaci. Vitamín C je tedy citlivý a je třeba mu dodat kyselé prostředí, které je šetrnější. Docílilo se toho tím, že bylo použito jako extrakční činidlo roztok šřavelové kyseliny s chelatačním činidlem (0,02 mmol/l šřavelové kyseliny a 0,5 mmol/l EDTA). Obsah vitamínu C byl stanoven ve zmraženém materiálu.

### **5.3.2.1 Postup přípravy vzorku**

Navážila jsem 2,5 g z každého homogenního vzorku. Poté se každý vzorek homogenizoval 10 minut s 20 ml extrakčního činidla. Tato směs byla převedena do odstředivací kyvety. Kyveta se vložila do centrifugy, ve které se směs odstředila dalších 10 minut při 3500 otáčkách. Každý supernatant jsem jednotlivě oddělila do 50 ml odměrné baňky. Zbytek v kyvetě jsem resuspendovala s 20 ml čerstvého extrakčního činidla a vzorek jsem znovu odstředila stejným způsobem. Spojené supernatanty jsem v baňce doplnila po rysku a řádně promíchala. Poté jsem vzorek filtrovala přes filtr ze skleněných vláken. Následně byl připraven na měření pomocí HPLC.

### **5.3.2.2 Měření kyseliny askorbové pomocí HPLC**

Samotná separace byla provedena na přístroji UHPLC Agilent 1200 Series Rapid Resolution LC Systém na koloně Zorbax SB-C8 (4,6 x 150 mm, zrnitost 5 µm). 0,02 M roztok kyseliny šťavelové zastupoval mobilní fázi. Objem nastříkovaného vzorku byl 5 µl a teplota byla 25 °C. Absorbance vzorku se odečítala při vlnové délce 254 nm. Kvantifikace je provedena pomocí standardu L-askorbové kyseliny v pracovním rozsahu 5-100 mg/kg čerstvého materiálu.

### **5.3.3 Identifikace organických kyselin v čerstvém materiálu**

Postup vycházel z článku Nour a kol., 2010. Tato metoda nám umožní sledovat zastoupení organických kyselin ve vzorku. Sledované kyseliny jsou: mravenčí, octová, vinná, citronová, jablečná, jantarová, fumarová, askorbová, mléčná a hlavně šťavelová (Nour a kol., 2010).

#### **5.3.3.1 Postup a příprava vzorku**

5 g průměrného vzorku jsem rozetřela s mořským pískem ve třecí misce na homogenní materiál. K tomu jsem přidala 20 ml vody. Takto jsem vzorek převedla do centrifugační kyvety, kde se 15 minut vytřepával. Poté jsem ho odstředila. Supernatant jsem přelila do 50 ml odměrné baňky. Zbýlý sediment jsem resuspendovala pomocí 20 ml vody a dalších 15 minut byl třepán. Stejným způsobem jsem ho po 15 minutách třepání odstředila. Supernatanty jsem v baňce doplnila po rysku a promíchala. Získaný vzorek jsem filtrovala přes filtr ze skleněných vláken (Z7) a do vialky jsem odpipetovala 1 ml.

#### **5.3.4 Měření**

Takto je vzorek připraven na vlastní měření opět pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie. Při této metodě byla použita kolona Phenomenex Synergi HYDRO (150 x 4,6 mm, 4 μm). Mobilní fáze byla tvořena 0,05 M roztokem  $K_2HPO_4$ , signál byl odečítán při 220 nm.



## 6 Cíle práce

V listové zelenině se nachází množství zdraví prospěšných sloučenin. Mezi ně řadíme především fenolické látky, askorbovou kyselinu a kyselinu šťavelovou.

Cílem této bakalářské práce bylo zjistit množství jednotlivých sloučenin obsažených v souboru vybraných volně rostoucích rostlin nacházejících se v České republice, tradičně využívaných jako zelenina a následné posouzení výsledků, případně porovnání s jinými studiemi. Samotná analýza proběhla pomocí analytické metody vysokoúčinné kapalinové chromatografie. Mezi hlavní cíle patří:

- Vypracování literární rešerše týkající se biologicky aktivních sloučenin v listové zelenině se zaměřením na volně rostoucí druhy, jejich zdravotní účinky na lidský organismus a metod jejich stanovení
- Vyhledat a pořídit vzorky volně rostoucích rostlin
- Seznámení se s analytickou metodou HPLC
- V pořízených vzorcích identifikovat a stanovit obsah biologicky aktivních sloučenin a vyhodnotit získané výsledky

## 7 Výsledky

Vzorky byly analyzovány pomocí analytické metody vysokoúčinné kapalinové chromatografie. Grafické znázornění a výpočty byly provedeny v programu MS Office Excel. Vzorek každé rostliny byl měřen dvakrát, z čehož jsem spočítala průměr a směrodatnou odchylku.

Hledanými látkami byly flavonoidní aglykony, askorbová kyselina a přítomnost organických kyselin. Jako vnitřní standard sloužila  $\alpha$ -naftyloctová kyselina a její odezva byla použita ke korekci nepřesností při analýze při stanovení flavonoidních aglykonů. Nalezeny byly především kvercetin a kemferol. Dále byla sledovaná askorbová kyselina a jejich výpočty probíhaly podobným způsobem. Spočítala jsem obsah daných látek z rovnice kalibrační přímky standardů vynesené v kalibračním grafu. Následně jsem obsah pomocí přímé úměry přepočítala na hodnoty mg/kg sušiny. Všechny výsledky zde budou uvedeny v mg/kg sušiny. Za pomoci údajů o sušině jsem provedla přepočet na čerstvý materiál.

**Tabulka 5 Legenda ke chromatografickým záznamům flavonoidních aglykonů**

	Zkratka	Analyt
1	Q	Kvercetin
2	K	Kemferol
3	MO	Morin
4	MY	Myricetin
5	L	Luteolin
6	A	Apigenin
7	VS	Vnitřní standard – $\alpha$ -naftyloctová kyselina

*Zdroj: vlastní*

**Tabulka 6 Údaje o množství kvercetinu v sušině a čerstvé hmotě**

Rostlina	Průměrná koncentrace kvercetinu v sušině (mg/kg)	Sušina (%)	Průměrná koncentrace kvercetinu v čerstvé hmotě (mg/kg)
Kopřiva dvoudomá (BP-1)	679±91,5	18,3	122±16,7
Česnáček lékařský (BP-2)	162,5±10,5	16,9	27,6±1,77
Bršlice kozí noha (BP-3)	1046±24	18,2	188±4,39
Šťovík kyselý (BP-4)	5658,5±176	13,5	736±23,7

Zdroj: vlastní

**Tabulka 7 Údaje o množství kemferolu v sušině a čerstvé hmotě**

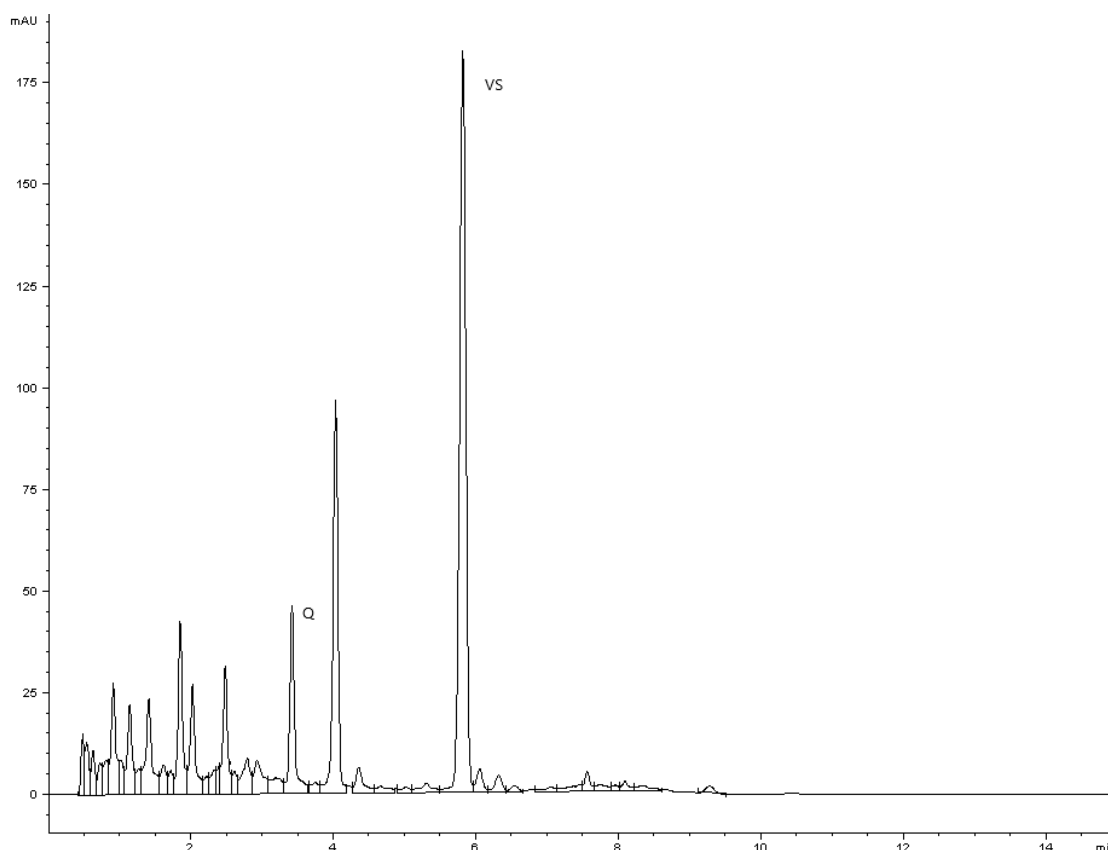
Rostlina	Průměrná koncentrace kemferolu v sušině (mg/kg)	Sušina (%)	Průměrná koncentrace kemferolu v čerstvé hmotě (mg/kg)
Kopřiva dvoudomá (BP-1)	pod LOQ	18,3	pod LOQ
Česnáček lékařský (BP-2)	27,6±2,4	16,9	4,7±0,4
Bršlice kozí noha (BP-3)	51,9±5	18,2	9,3±0,9
Šťovík kyselý (BP-4)	806±30,1	13,5	105±4,06

Zdroj: vlastní

### 7.1 Kopřiva dvoudomá

Na obrázku č. 13 je uveden chromatografický profil patřící k analýze kopřivy dvoudomé. Převažující nalezenou látkou je kvercetin. Kemferol se nachází pod mezí stanovitelnosti, tudíž nebyl u kopřivy dvoudomé zaznamenán. Obsah kvercetinu dosáhl 679±91,5 mg/kg sušiny. Ostatní píky jsou neznámé látky.

**Obrázek 13 Chromatografický profil kopřivy dvoudomé**



*Zdroj: vlastní*

Množství kvercetinu naměřené v kopřivě dvoudomé je srovnatelné s brokolicí nebo borůvkami, kdy kopřiva dvoudomá obsahuje  $122 \pm 16,7$  mg/kg, brokolice 137 mg/mg a borůvky 146 mg/kg v čerstvém materiálu (Dabeek a Maara, 2019).

## **7.2 Česnáček lékařský**

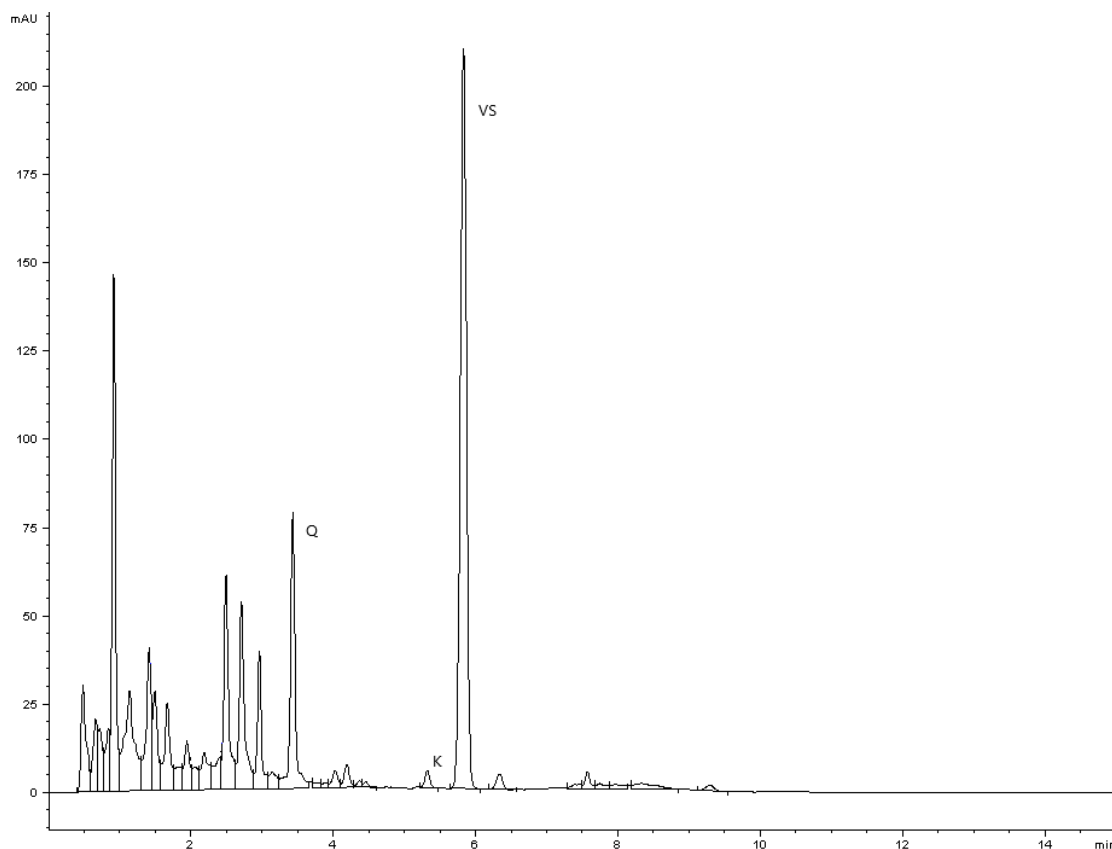
U grafu česnáčku lékařského byly zaznamenány dvě námi hledané flavonoidní látky, kterými jsou kvercetin a v nepatrném množství i kemferol. Kvercetin dosáhl hodnoty  $162,5 \pm 10,5$  mg/kg, kemferol jen  $27,6 \pm 2,4$  mg/kg sušiny.

Obsah kemferolu v česnáčku lékařském je velmi blízký naměřenému obsahu kemferolu u zelí, které má 23,9 mg/kg (Sultana, Anwar, 2008).

Množství kvercetinu vyskytující se v česnáčku lékařském je nejnižší ze všech analyzovaných rostlin. Většina běžně užívaného ovoce a zeleniny obsahuje vyšší množství kvercetinu. Kemferolu obsahuje česnáček lékařský více než jablka, která zahrnují 1,4 mg/kg nebo brusinky s množstvím 2,1 mg/kg čerstvé hmoty. V přepočtu na

čerstvou hmotu obsahuje česnáček lékařský  $4,7 \pm 0,4$  mg/kg, tedy o trochu více než jablka a brusinky (Dabeek a Maara, 2019).

**Obrázek 14** Chromatografický profil česnáčku lékařského



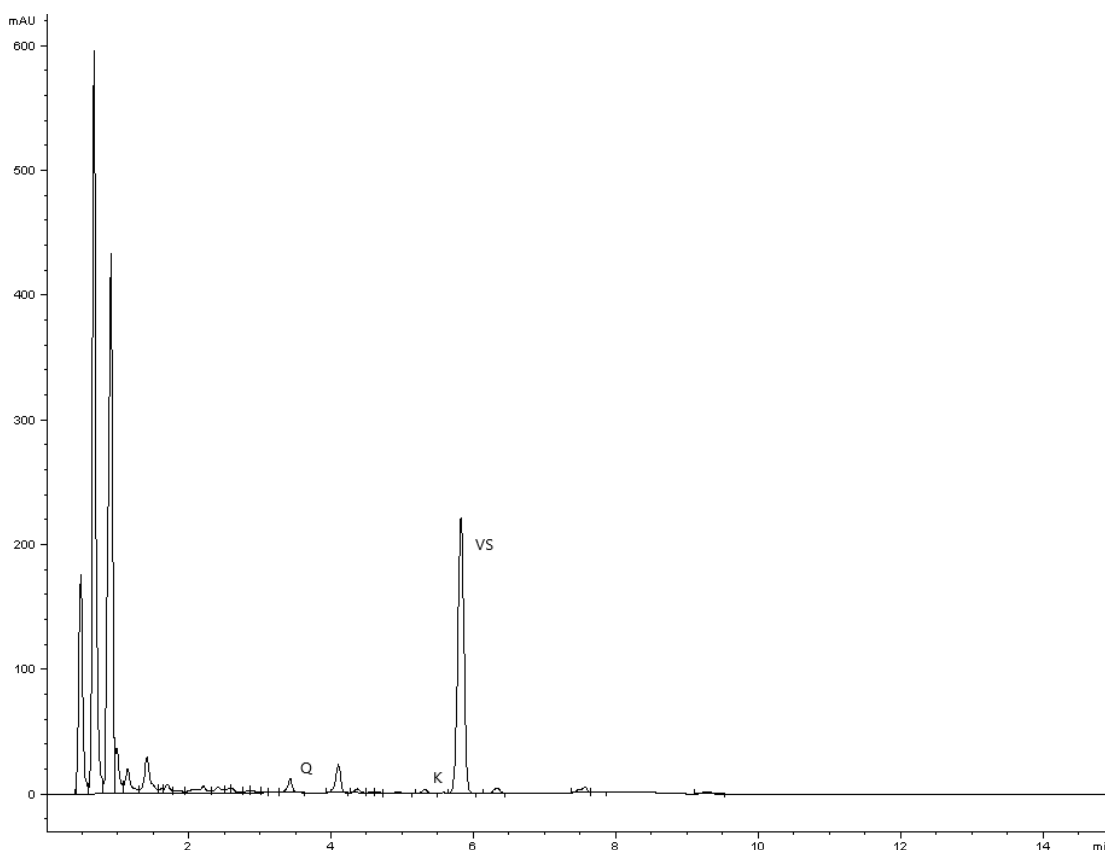
*Zdroj: vlastní*

### 7.3 *Bršlice kozí noha*

Chromatografický záznam u této rostliny nám prozradil, že se v ní nachází malé množství kvercetinu, a ještě méně kemferolu. V porovnání s dalšími třemi zkoumanými rostlinami této práce obsahuje bršlice kozí noha málo flavonoidních látek, ale oproti kopřivě dvoudomé obsahuje alespoň nějakou koncentraci kemferolu, a to  $51,9 \pm 5$  mg/kg. Kvercetin byl naměřen v hodnotě  $1046 \pm 24$  mg/kg sušiny. Tato hodnota je srovnatelná s množstvím kvercetinu ve žluté cibuli 1080 mg/kg sušiny (Nuutila a kol., 2003).

Můžeme usoudit, že bršlice kozí noha nám dodá kvercetinu více než brokolice, která obsahuje 137 mg/kg, nebo pažitka s obsahem 104 mg/kg čerstvé hmoty. Kemferolu obsahuje více než jablka nebo brusinky. Vše je porovnáváno v mg/kg čerstvé hmoty (Dabeek a Maara, 2019).

**Obrázek 15 Chromatografický profil bršlice kozí nohy**



*Zdroj: vlastní*

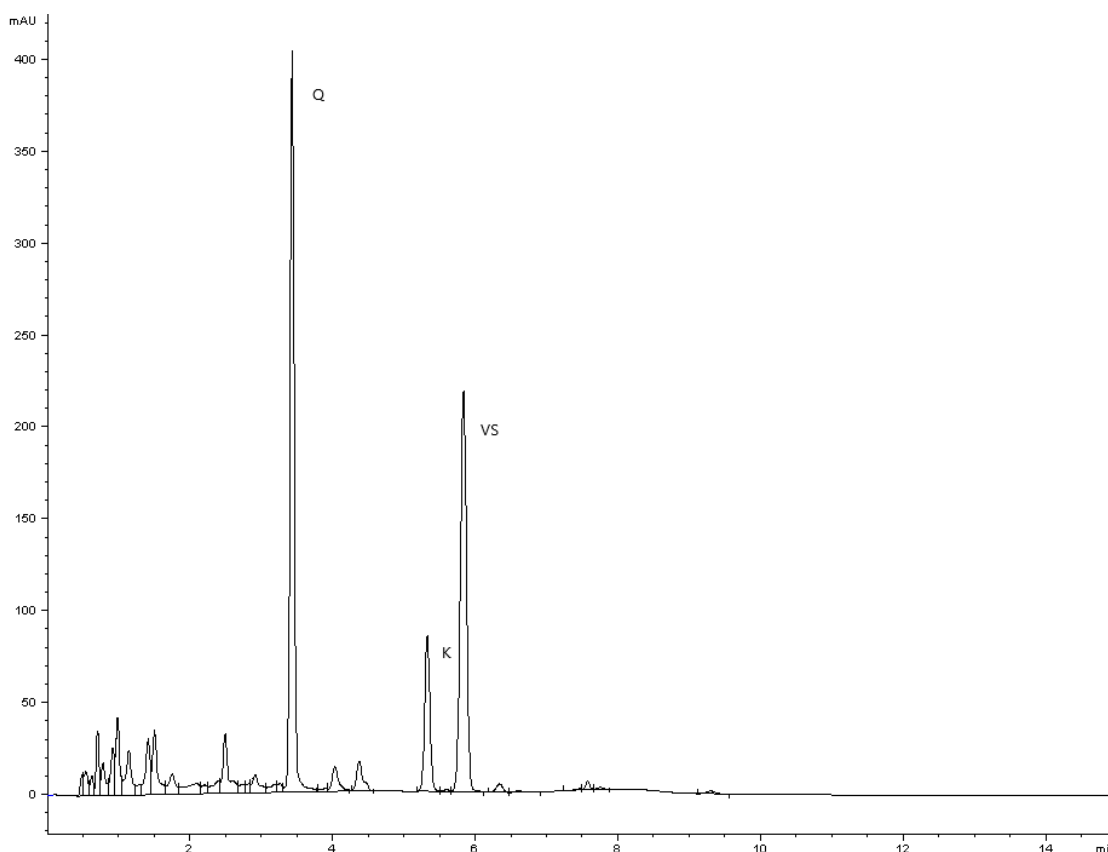
#### **7.4 Šťovík kyselý**

Píky chromatografického grafu šťovíku kyselého zaznamenaly největší obsah kvercetinu i kemferolu. Obsah kvercetinu byl několikanásobně vyšší než u ostatních rostlin a činil  $5658,5 \pm 176$  mg/kg. Pro kemferol jsem naměřila hodnotu  $806 \pm 30,1$  mg/kg sušiny.

Šťovík kyselý nám dodá více kvercetinu než špenát nebo kapusta. U špenátu bylo ve studii W. M. Dabeeka a M. V. Maara (2019) naměřeno 272 mg/kg a u kapusty 226 mg/kg čerstvé hmoty. Šťovík kyselý obsahuje  $736 \pm 23,7$  mg/kg kvercetinu v čerstvém materiálu (Dabeek a Maara, 2019).

Tato rostlina se sice vyznačuje vysokým podílem kvercetinu, ale stále existují rostliny s mnohem vyšším obsahem kvercetinu. Jen pro srovnání, některé druhy cibule, jako je cibule červená nebo žlutá. Vysoký podíl kvercetinu se schovává v jejich slupce. Červená cibule obsahuje kolem 80 000 mg/kg kvercetinu (Nuutila a kol., 2003).

**Obrázek 16 Chromatografický profil šťovíku kyselého**



*Zdroj: vlastní*

### **7.5 Výsledky askorbové kyseliny (AA)**

Měření vitamínu C probíhalo v podstatě na stejném principu jako měření flavonoidních aglykonů. Měření a samotné stanovení hodnot proběhlo pomocí analytické metody vysokoúčinné kapalinové chromatografie. Měřen byl soubor vybraných rostlin, mezi které patří kopřiva dvoudomá, bršlice kozí noha, česnáček lékařský a šťovík kyselý. Pro každou rostlinu proběhlo dvojí měření, ze kterých se vypočetla průměrná koncentrace askorbové kyseliny v rostlinách.

Nejvyšší koncentrace askorbové kyseliny byla analyzována u česnáčku lékařského s naměřenou hodnotou 265 mg/kg. Druhým největším výsledkem z tohoto měření jsem zaznamenala šťovík kyselý s koncentrací askorbové kyseliny 181 mg/kg.

Ve vzorku z kopřivy dvoudomé bylo analyzováno množství AA 44,2 mg/kg. Nejnižší naměřená hodnota vitamínu C ze souboru těchto rostlin patří bršlici kozí noze s koncentrací 39,6 mg/kg.

**Tabulka 8 Přehled koncentrací askorbové kyseliny**

Vzorek	Průměrná koncentrace v čerstvé hmotě (mg/kg)	Směrodatná odchylka
Kopřiva dvoudomá (BP – 1)	44,2	1,8
Česnáček lékařský (BP – 2)	265	21,7
Bršlice kozí noha (BP – 3)	39,6	1,7
Šťovík kyselý (BP – 4)	181	1

*Zdroj: vlastní*

**Tabulka 9 Porovnání AA v čerstvém materiálu**

<b>Materiál</b>	<b>AA (mg/kg)</b>
Petržel	1310
Česnáček lékařský	266
Pomeranč	244
Citron	207
Šťovík kyselý	181
Rajče	159
Kopr	137
Kopřiva dvoudomá	44,2
Bršlice kozí noha	39,6
Nektarinka	10,2
Meruňka	5,7

*Zdroj: vlastní*

Porovnáno se studií Gird C. E. a kolektivu (2018).



V tabulce č. 9 vidíme, že česnáček lékařský obsahuje dokonce více vitamínu C než citron nebo pomeranč a další druhy ovoce, jak vidíme v tabulce č. 9. Soubor analyzovaných rostlin v této bakalářské práci obsahuje slušné množství vitamínu C, proto je vhodné tuto listovou zeleninu zařadit do svého jídelníčku. Rostliny analyzované v této práci jsou vhodnými zdroji pro doplnění vitamínu C.

### **7.6 Identifikace organických kyselin**

Identifikace organických kyselin proběhla kvalitativně. U každé rostliny jsem vyhodnotila přítomnost daných kyselin. Množství analyzováno nebylo.

Šťavelová kyselina byla nalezena u všech rostlin této bakalářské práce.

Jablečná kyselina byla identifikována také u všech čtyř rostlin analyzovaných v této práci.

Fumarová kyselina se nachází ve všech rostlinách, kromě šťovíku kyselého. Ten obsahuje naopak jako jediný vinnou kyselinu a citronovou kyselinu.

Mravenčí kyselina byla nalezena pouze ve vzorku kopřivy dvoudomé. Dodává jí její žahavost a tím i mnohé léčivé účinky.

## 8 Diskuze

Nejnižší hodnoty kvercetinu byly naměřeny u česnáčku lékařského. Naopak jednoznačně nejvyšší hodnoty vykazuje šťovík kyselý. Ten obsahuje i vysokou koncentraci kemferolu v porovnání s ostatními rostlinami této studie. U kopřivy dvoudomé byl dokonce kemferol naměřen pod mez detekce.

Askorbová kyselina vykazala nejvyšší hodnoty u česnáčku lékařského, naopak nejnižší hodnoty u bršlice kozí nohy.

V obsahu kvercetinu si soubor těchto zkoumaných rostlin stojí dobře. V porovnání se studií z roku 2019 od pana Dabeeka a Maara můžeme posoudit, že česnáček lékařský nám dodá minimální množství kvercetinu. Dokonce i ovoce jako brusinky nebo třešně nám dodají více kvercetinu. Bršlice kozí noha a kopřiva dvoudomá nám dodají přibližně stejné množství kvercetinu jako brokolice, listový salát nebo pažitka. Vše se pohybuje v rozmezí 100-200 mg/kg čerstvého materiálu. Šťovík kyselý obsahuje  $736 \pm 23,7$  mg/kg v čerstvém materiálu. Tato hodnota je ze studie p. Dabeeka (2019) nejbližše srovnatelná s koprem, u kterého byla naměřena hodnota 790 mg/kg v čerstvé hmotě. Oregano, fenykl a jablka obsahují množství kvercetinu okolo 400 mg/kg čerstvé hmoty. Jsou tedy vhodnějšími adepty pro příjem kvercetinu než kopřiva dvoudomá, bršlice kozí noha nebo česnáček lékařský (Dabeek a Maara, 2019).

Množství kemferolu ve šťovíku kyselém by se mohlo rovnat pažitce, u které bylo naměřeno 125 mg/kg v čerstvém materiálu a ve šťovíku kyselém  $105 \pm 4,06$  mg/kg čerstvého materiálu. Ostatní ovoce a zelenina zkoumané ve studii obsahují vyšší hodnoty kemferolu. Například špenát 550 mg/kg nebo kopr s hodnotou 400 mg/kg. Obě hodnoty byly také naměřeny v čerstvém materiálu (Dabeek a Maara, 2019).

Studie z roku 2007 od tvůrců B. Sultana a F. Anwara odhalila, že zelenina pro nás běžněji využívaná nám nedodá tolik kvercetinu, co soubor zkoumaných rostlin v této práci. Například u mrkve, zelí nebo květáku nebyl kvercetin v této studii detekován vůbec. Naopak u špenátu, květáku nebo mrkve byl analyzován myricetin, který při vypracování této práce nalezen nebyl ani u jedné ze zkoumaných rostlin (Sultana a kol., 2007).

Jako zdroj kemferolu by pro nás byl ze souboru vybraných rostlin nejvhodnější šťovík kyselý, ostatní rostliny se moc vysokým podílem kemferolu nevyznačují. V tomto ohledu by byla lepší pažitka, jež obsahuje 235 mg/kg kemferolu v sušině (Nuutila a kol., 2003).

Zlatá střední cesta pro příjem kvercetinu by byl špenát, jelikož v něm byla naměřena hodnota kvercetinu 766 mg/kg sušiny ve studii A. M. Nuutila a kolektivu z roku 2002. Takže kopřiva dvoudomá a česnáček lékařský obsahují oproti špenátu kvercetinu méně. Kdežto šťovík kyselý a bršlice kozí noha ho naopak obsahují více (Nuutila a kol., 2002).

## 9 Závěr

Principem této bakalářské práce bylo zpracovat literární rešerši týkající se biologicky aktivních látek, jako jsou flavonoidy, askorbová kyselina nebo organické kyseliny.

Dalším mým úkolem bylo najít vybrané volně rostoucí rostliny používané jako listová zelenina a zpracovat vzorky k použití v analytické metodě HPLC. Vysokoúčinná kapalinová chromatografie je ideální analytická separační metoda pro zpracování rostlinných vzorků (Bonta, 2017).

Detekován byl především obsah flavonoidů, ze kterých se podařilo nejlépe analyzovat flavonoly kvercetin a kemferol, dále obsah askorbové kyseliny a dalších organických kyselin.

Analyzován byl soubor čtyř vybraných rostlin tradičně využívaných jako zelenina. Tyto rostliny jsou kopřiva dvoudomá, česnáček lékařský, bršlice kozí noha a šťovík kyselý. Byly sbírány v Českých Budějovicích na jaře roku 2019.

Z konečných výsledků vyplývá, že šťovík kyselý má nejbohatší obsah kvercetinu a kemferolu. Nejvyšší hodnoty askorbové kyseliny byly analyzovány u vzorku česnáčku lékařského.

Hodnocena také byla přítomnost organických kyselin. Šťavelová kyselina a jablečná kyselina byly identifikovány u všech rostlin analyzovaných v této bakalářské práci. Vinná a citronová kyselina byly nalezeny pouze u šťovíku kyselého. Jediná askorbová kyselina byla hodnocena i kvantitativně. Česnáček lékařský vykázal nejvyšší hodnoty vitamínu C. Proto je velmi vhodným adeptem pro příjem tohoto vitamínu důležitého pro náš imunitní systém.

## 10 Seznam literatury

1. AGATI, G. A kol. *Flavonoids as antioxidants in plants: Location and functional significance*, Plant Science 196, 2012, ISSN 67-76
2. ALTUNKAYA, A. a GOKMEN, V., *Effect of various inhibitors on enzymatic browning, antioxidant activity and total phenol content of fresh lettuce (Lactuca sativa)*, Food Chemistry, Vol. 107, 2008, 1173-1179
3. ARNDT, T. *Šťavel kyselý (Oxalis acetosella)*, Celostnimedica.cz [online]. 2010, 04.10.2010 Dostupné z: <https://www.celostnimedica.cz/stavel-kysel-y-oxalis-acetosella.htm>
4. BABU P.V.A., a kol. *Recent advances in understanding the anti-diabetic actions of dietary flavonoids*. Journal of Nutritional Biochemistry 24, 2013, ISSN 1777-1789
5. BELLO, O. M., a kol., *Wild vegetable Rumex acetosa Linn.: Its ethnobotany, pharmacology and phytochemistry – A review*, South African Journal of Botany, 2019, Vol. 125, 149-160
6. BERANOVÁ, M. *Jídlo a pití v pravěku a ve středověku*, 3. rozšířené vydání, Academia, Praha, 2015, ISBN 978-80-200-2498-5
7. BROOKIE, K. L. a kol., *Intake of Raw Fruits and Vegetables In Associated With Better Mental Health Than Intake of Processed Fruits and Vegetables*, Frontiers in Psychology, Vol. 9, 2018, article 487
8. BONTA, K. R., *Application of HPLC and ESI-MS techniques in the analysis of phenolic acids and flavonoids from green leafy vegetables (GLVs)*, Journal of Pharmaceutical Analysis 7, 2017, ISSN 349-364
9. CRAIG, W. J., *Health-promoting properties of common herbs*, The American Journal of Clinical Nutrition, 2013, s. 491
10. DABEEK, M. W. and MARRA, M. V., *Dietary Quercetin and Kaempferol: Bioavailability and Potential Cardiovascular -Related Bioactivity in Humans*, Nutrients, 11, 2288, 2019
11. DADÁKOVÁ, E., PROCHÁZKOVÁ E., KŘÍŽEK, M., *Application of micellar electrokinetic capillary chromatography for quantitative analysis of quercetin in plant materials*. 2001, Electrophoresis, 22, 1573-1578
12. FUWANG, WU a kol., *Physiological and biochemical response of harvested plum fruit to oxalic acid during ripening or shelf-life*, Food Research International 44, 2011, 1299-1305

13. GIRD C. E., a kol., *HPLC evaluation of the ascorbic acid content of romanian fruits and vegetables from retail markets*, Farmacia Vol. 88, 2018, 5
14. GOMÉZ-LIMIA, L. a kol., *Effect of different cooking methods on the antioxidant capacity and flavonoidy, organic acid and mineral contents of Galega Kale (Brassica oleracea var. acephala cv. Galega)*, International Journal of Food Sciences and Nutrition, 2018, ISSN 1465-3478
15. GUNATHILAKA, P. D. R. a kol., *The impact of climate change on labour demand in the plantation sector: the case of tea production in Sri Lanka*, The Australian Journal of Agricultural and Resource Economics, Vol. 62, 2018, 480-500
16. HARMATHA, J., *Structural abundance and biological significance of lignans and related phenylpropanoids*, Chemické listy 99, 2005, ISSN 622-632
17. HOSSAIN S.J. a kol., *Antioxidant potential of common leafy vegetables in Bangladesh*, Bangladesh Journal of Botany, 2015, 44 (1), 51-57.
18. CHIVA- BLANCH G. a BADIMON, L. *Effects of Polyphenol Intake on Metabolic Syndrome: Current Evidences from Human Trials*,. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2017, 1-18.
19. IGNAT, I. a I. VOLF. *A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables*. Food Chemistry 126, 2011. ISSN 1824-1835.
20. IMRAN, M. a kol., *Kaempferol: A Key Emphasis to Its Anticancer Potential*, Molecules 24122277, MDPI, 2019
21. JAN N. K., a kol., *Stinging nettle (Urtica dioica L.): a reservoir of nutrition and bioactive components with great functional potential*, Journal of Food Measurement and Characterization 11, 2017, 423-433
22. KALAČ, P. *Funkční potraviny*. České Budějovice: Dona, 2003. ISBN 80-7322-029-6.
23. KHURSHEED R., GULATI M. *Enhancing the potential preclinical and clinical benefits of quercetin through novel drug delivery systems*, School of Pharmaceutical Sciences, Lovely Professional University, Phagwara 144411, Punjab, India, 2019
24. KLOUDA P., *Moderní analytické metody*, Nakladatelství Pavel Klouda, Ostrava, 2003, ISBN 80-86369-07-2
25. KOPEC, K. *Zelenina ve výživě člověka*. Praha: Grada, 2010. Zdraví & životní styl. ISBN 978-80-247-2845-2.

26. KŘÍŽEK, M., ŠÍMA, J. *Analytická chemie. 1. vyd.* České Budějovice: ZF JU České Budějovice, 2015, 214 s., s. 178-194. ISBN: 978-80-7394-486-5.
27. KUBÁT, K. ed. *Klíč ke květeně České republiky.* Praha: Academia, 2002. ISBN 80-200-0836-5.
28. LYKKESFELDT, J., MICHELS, A. J., *Vitamin C*, American Society for Nutrition, Adv.-Nutr. 5, 16-18, 2014
29. MALEKI S. J. a kol, *Anti-inflammatory effects of flavonoids*, Food Chemistry Vol. 299, 2019, 125124
30. MANACH, C., SCALBERT, A. a ko., *Polyphenols: food sources and bioavailability. The American Journal of Clinical Nutrition* [online]. 2004, 79(5), 727-747 [cit. 2016-07-25]. Dostupné z: <http://ajcn.nutrition.org/content/79/5/727.full>
31. MISHRA, A. P. a kol. *Bioactive compounds and health benefits of edible Rumex species – A review*, Cellular and Molecular Biology, 2018, ISSN 0145-5680
32. NOUR, V. a kol., *HPLC Organic Acid Analysis in Different Citrus Juices under Reversed Phase Condition*, Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj 38(1), 44-48, 2010
33. NTULI, N. R., *Nutrient content of scarcely known wild leafy vegetables from northern KwaZulu-Natal, South Africa*, South African Journal of Botany 127, 2019, 19-24
34. NUUTILA A. M. a kol., *Comparison of antioxidant activities of onion and garlic extracts by inhibition of lipid peroxidation and radical scavenging activity.* Food Chemistry 81, 2003, ISSN 485-493
35. NUUTILA A. M. a kol., *Comparison of methods for the hydrolysis of flavonoids and phenolic acids from onion and spinach for HPLC analysis.* Food Chemistry 76, 2002, ISSN 519-525
36. OPEKAR, F. a kol. *Základní analytická chemie: pro studenty, pro něž analytická chemie není hlavním studijním oborem.* 1. vyd. Praha, Karolinum, 2003, 165-169. ISBN 80-246-0553-8.
37. ORAVA., a kol., *Identification of bioactive compounds in the leaves and stems of Aegopodium podagraria by various analytical techniques*, Procedia Chemistry 2, 2010, ISSN 152-160
38. PACIOLLA, C. a kol., *Vitamin C in Plants: From Functions to Biofortification*, Antioxidants 8, 519, 2019

39. PAZDERA, Z. *Alliaria petiolata* - česnáček lékařský. Botanika.wendys.cz [online]. 22. 5. 2015 [cit. 2020-03-24]. Dostupné z: <https://botanika.wendys.cz/index.php/14-herbar-rostlin/13-alliaria-petiolata-cesnacek-lekarsky>
40. PELEŠKA, S. a SEDLÁČKOVÁ H. *Zelenina na zahrádce a v kuchyni*. Praha: Ikar, 2010. ISBN 978-80-249-1351-3.
41. PRASAD, R. a SHIVAY, I. S. *Oxalic acid/oxalates in plants: from self-defence to phytoremediation*, Division of Agronomy, Current Science, vol. 112, no. 8 , 2017
42. PROESTOS, CH., VARZAKAS, T., *Aromatic Plants: Antioxidant Capacity and Polyphenol Characterisation*, Foods 6(4): 28, 2017
43. RADMAN, S. a kol., *Influence of nitrogen fertilization on chemical composition of cultivated nettle*, Emirates Journal of Food and Agriculture . 2015, 27(12):889-896
44. RAJPUT P. a kol., *Phytochemical and pharmacological importance of genus urtica – a review*, IJPSR, Vol. 9 (4), 2018, ISSN 1387-1396
45. RAMOS, J. A., a kol., *Influence of cooking methods on bioactive compounds in beetroot*, Semina ciencias Agrarias, Londrina, v. 38, 2017, 1295-1302
46. REN, J. a kol., *Recent progress regarding kaempferol for the treatment of variol disease (Review)*, Experimental and Therapeutic Medicine 18, 2019, ISSN 2759-2776
47. RUÍZ-JIMÉNEZ J. M. a kol., *Effect of oxalic acid on quality attributes of artichokes stored at ambient temperature*, Postharvest Biology and Technology 95, 2014, 60-63
48. SCHAUER, T. *Svět rostlin: 1150 květin, trav, travin, stromů a keřů střední Evropy*. 5. vyd. Čestlice: Rebo, 2014. Velký průvodce přírodou (Rebo). ISBN 978-80-255-0840-4.
49. SHONTE T. T. a KOCK H. I., *Descriptive sensory evaluation of cooked stinging nettle (Urtica dioica L.) leaves and leaf infusions: Effect of using fresh or oven-dried leaves*, South African Journal of Botany 110, 2017, 167-176
50. SLANINA, J. a TÁBORSKÁ E., *Příjem, biologická dostupnost a metabolismus rostlinných polyfenolů u člověka*. Chemické listy. 2004, 98(5), 239-245. ISSN 1213-7103



51. STORCKSDIESK, S. a kol., *Oxalic acid does not influence nonhaem iron absorption in humans: a comparison of kale and spinach meals*, European Journal of Clinical Nutrition 62, 2008, 336-341
52. SÝKORA, D., a kol., *Moderní stacionární fáze pro RP-HPLC*, Chem. listy 101, 2007, ISSN 190–199
53. SULTANA B., ANWAR F. *Flavonols (kaempferol, quercetin, myricetin) contents of selected fruits, vegetables, and medicinal plants*. Food chemistry 108, 2008. ISSN 879-884
54. ŠTULÍK, K. *Analytické separační metody*. Praha: Karolinum, 2004. ISBN 80-246-0852-9.
55. TAKEKOSHI, S., NAGATA H. *Flavonoids enhance melanogenesis in human melanoma cells*. Tokai J Exp Clin Med., 2014. roč. 39, č.3, ISSN 116-21.
56. TOVCHIGA O., a kol., *Goutweed (Aegopodium podagraria L.) biological activity and the possibilities of its use for the correction of the lipid metabolism disorders*, Kharkiv State University of Food Technology and Trade, 2017, ISSN
57. TUHÁRSKY, P., *Vitamin C a megaskorbická léčba*, Slovensko, Vyd. Perfekt, 2014, ISBN 978-80-8046-662-6
58. ULUSOY G.H., SANLIER N. *A minireview of quercetin: from its metabolism to possible mechanisms of its biological activities*, Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2019
59. UPTON, R. H., *Stinging nettles leaf (Urtica dioica L.): Extraordinary vegetable medicine*, Journal of Herbal Medicine, Vol. 3, 2013, 9-38
60. VELÍŠEK, J. a HAJŠLOVÁ J. *Chemie potravin*. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009. ISBN 978-80-86659-17-6.
61. WILLIAMS D. J. a kol., *Organic acids in Kakadu plum (Terminalia ferdinandiana): The good (ellagic), the bad (oxalic) and the uncertain (ascorbic)*, Food Research International 89, 2016, 237-244
62. ZHENG, Y. a kol., *Determination of oxalic acid in spinach with carbon nanotubes-modified electrode*, Food Chemistry 114, 2009, 1523-1528

## 11 Seznam tabulek a obrázků

Obrázek 1 Vitamín C .....	12
Obrázek 2 Šťavelová kyselina .....	15
Obrázek 3 Kvercetin .....	19
Obrázek 4 Kemferol.....	20
Obrázek 5 Anthokyany .....	22
Obrázek 6 Kopřiva dvoudomá.....	27
Obrázek 7 Bršlice kozí noha .....	30
Obrázek 8 Šťovík kyselý .....	32
Obrázek 9 Kvetoucí Česnáček lékařský .....	34
Obrázek 10 Přístroj HPLC .....	37
Obrázek 11 Zpětný chladič .....	44
Obrázek 12 SPE extrakce .....	45
Obrázek 13 Chromatografický profil kopřivy dvoudomé .....	52
Obrázek 14 Chromatografický profil česnáčku lékařského.....	53
Obrázek 15 Chromatografický profil bršlice kozí nohy .....	54
Obrázek 16 Chromatografický profil šťovíku kyselého .....	55
Tabulka 1 Průměrný obsah flavonoidů (mg/kg či mg/l) v požitelných částech ovoce a zeleniny a v nápojích .....	23
Tabulka 2 Přehled nejvýznamnějších zdrojů flavonoidů ve světě.....	24
Tabulka 3 Analyzované rostliny .....	42
Tabulka 4 Gradientová eluce .....	46
Tabulka 5 Legenda ke chromatografickým záznamům flavonoidních aglykonů.....	50
Tabulka 6 Údaje o množství kvercetinu v sušině a čerstvé hmotě .....	51
Tabulka 7 Údaje o množství kemferolu v sušině a čerstvé hmotě.....	51
Tabulka 8 Přehled koncentrací askorbové kyseliny .....	56
Tabulka 9 Porovnání AA v čerstvém materiálu.....	56

## **12 Seznam zkratek**

AA – askorbová kyselina

HPLC – vysokoúčinná kapalinová chromatografie

LOQ – mez stanovitelnosti

OA – šťavelová kyselina

ROS – reaktivní formy kyslíku